



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA
Instituto Universitario de Sanidad Animal
y Seguridad Alimentaria

Moluscos gasterópodos como bioindicadores en el Archipiélago Canario: de procesos naturales a causas antropogénicas

Rubén Ramírez Cañada

Las Palmas de Gran Canaria, noviembre de 2009



Anexo I

D^a BEGOÑA ACOSTA HERNÁNDEZ, SECRETARIA DEL INSTITUTO UNIVERSITARIO DE SANIDAD ANIMAL Y SEGURIDAD ALIMENTARIA DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA,

CERTIFICA,

Que el Consejo del Instituto en su sesión de fecha 20 de noviembre de 2009 tomó el acuerdo de dar el consentimiento para su tramitación, a la tesis doctoral titulada "MOLUSCOS GASTERÓPODOS COMO BIOINDICADORES EN EL ARCHIPIÉLAGO CANARIO: DE PROCESOS NATURALES A CAUSAS ANTROPOGÉNICAS", presentada por el doctorando D Rubén Ramírez Cañada y dirigida por el Doctor D. Ricardo Jesús Haroun Tabraue y la Doctora D^a. María Dolores Gelado Caballero.

Y para que así conste, y a efectos de lo previsto en el Artº 73.2 del Reglamento de Estudios de Doctorado de esta Universidad, firmo la presente en Las Palmas de Gran Canaria, a veinte de noviembre de dos mil nueve.





Anexo II

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

Departamento: Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria

Programa de doctorado: Acuicultura: producción controlada de animales acuáticos

Título de la Tesis

MOLUSCOS GASTERÓPODOS COMO BIOINDICADORES EN EL ARCHIPIÉLAGO CANARIO: DE PROCESOS NATURALES A CASUAS ANTROPOGÉNICAS

Tesis doctoral presentada por D. Rubén Ramírez Cañada

Dirigida por el Dr. D. Ricardo Jesús Haroun Tabraue **y la Dra.** Dña. María Dolores Gelado Caballero.

El/la Director/a
(Firma)

El/la Doctorando/a
(Firma)

Las Palmas de Gran Canaria, a 20 de noviembre de 2009

A mi familia

AGRADECIMIENTOS – *Acknowledgements*

Durante el desarrollo de esta tesis han intervenido muchas personas de forma directa o indirecta a las cuales quiero agradecer su aportación:

En primer lugar, me gustaría agradecer a mis padres, Mamá y Papá, que me han apoyado incondicionalmente toda mi vida y, como no, en el desarrollo de esta tesis. A mis hermanos, Fabi y Bertino, que igualmente me han apoyado hasta llegar a este momento. A Demelza, que me apoyó incondicionalmente en todo momento.

En segundo lugar, tengo que agradecer de una manera muy especial la ayuda de Oscar Bergasa y Fernando Tuya. La elaboración de esta tesis fue larga y dura pero con la ayuda de dos amigos como ellos todo fue mucho más fácil. Desde el primer día que llegue a Gran Canaria para desarrollar este trabajo no he dejado de recibir favores de todo tipo por parte de ambos. Tengo una deuda con ellos que creo que tardaré años en pagar. Muchas gracias colegasj.

En tercer lugar, en la elaboración de esta tesis ha sido primordial la interacción e intercambio de ideas, información, materiales, etc., con otros investigadores. En este caso, han habido muchos como son: Pablo Sánchez (Universidad de Alicante), María Quintela y Jose Miguel Ruiz (Universidad de A Coruña), Junkal Peña (Universidad del País Vasco), Marcelo Enrique Conti (Universidad de la Sapienza, Roma), Heike Kappes (Universidad de

Colonia), Cayetano Collado, J. Joaquín Hernández, Ángelo Santana y Rafael Ginés (Universidad de Las Palmas de Gran Canaria).

En cuarto lugar, un capítulo de esta tesis fue elaborado en la *Marine Biological Association of the United Kingdom*, en la cual recibí la inestimable ayuda de William J. Langston (Bill), Gary Burt†, Belinda Chesman, Sean O’Hara, Peter Gibbs and Steve Hawkins. Además, sobre todo Patricia Masterson y Rocío Pérez (compatriotas españolas) hicieron mi estancia en el centro más agradable. No puedo olvidarme de mis compañeros de casa, quienes me hicieron la vida más feliz en Plymouth: Miki Itsuji (Japón), James Kporkenu (Ghana), Gabriel (Kenia), Kirril (Letonia); incluso mi casero, Richard Squance. Tíos, gracias por todo¡¡.

Fourth, a chapter of this thesis was elaborated in the Marine Biological Association of the United Kingdom, where I received the invaluable help of William J. Langston (Bill), Gary Burt†, Belinda Chesman, Sean O’Hara, Peter Gibbs and Steve Hawkins. Moreover, especially Patricia Masterson and Rocío Pérez (Spanish countrywomen) did my stay more pleasant in the centre. I can not forget my housemates who also did my life more happy in Plymouth: Miki Itsuji (Japan), James Kporkenu (Ghana), Gabriel (Kenia) and Kirril (Latvia); also my landlord, Richard Squance. Guys, thank you for everything¡¡

En quinto lugar, agradezco a las personas que hacen bien su trabajo, lo que ha influido positivamente en esta tesis, como son: Tony Sánchez (logística y material), Pedro Cardona (de todo, alias “McGiver”), Avelina Fernández y Cía. (Biblioteca de Ciencias del

Mar), Victor Brizuela (Informática) e Inmaculada Navarro (Servicio de limpieza del Departamento de Química).

En sexto lugar, durante los trabajos de campo a lo largo de todo el Archipiélago (proyecto “*Canarias, por una Costa Viva*”) recibí la ayuda de decenas de personas a los cuales agradezco su colaboración: Adrián Abelardo, Sandra Prieto, Patricia De La Fuente, Gilberto Carreira, Ángela M. Palao, Beatriz Herrera, Alexis Rivera, María Emilia Morales (Mariemi), Juan Jesús Moreno (Walo), Ramón Noguera, Raquel Arriaga, Sandro Armas, Oscar Bergasa, Fabián Ramírez, Rodolfo Jaraíz (Rodo), Fernando Izquierdo, Francisco Rodríguez, Gustavo Viera, Julio Agujetas, Yamilet Cárdenes, Cristina Fernández, Alejandro Melián, Norberto Rodríguez, Pablo González, Raquel García, Yaiza Santos, Naira Jorge, Jonay Cruz, Alejandro Padrón, Cristina Reina, Daura Luis y Olivia Hernández. También a los vigilantes de medio ambiente del Parque Natural del Archipiélago Chinijo: Jeremías Cabrera, Melo y Moncho.

En séptimo lugar, el trabajo en el laboratorio y en el despacho fue más leve gracias a la compañía de muchas personas como: Oscar Bergasa, María Jesús Rodríguez, Pedro Cardona, Patricia López, Adrián Abelardo, Leticia Barbero, Jesús Del Pino, Iván Rodríguez. Además, con algunos de éstos y otros como Fernando Tuya, Iván Blanch, Leo Ortega, Irene Del Barrio compartí viajes a congresos y más experiencias. Volvería a repetir.

En octavo lugar, me gustaría agradecer la inestimable ayuda de mis directores de tesis: Ricardo J. Haroun y M^a Dolores Gelado, que me brindaron la oportunidad para iniciarme en la investigación científica y todo lo que ello conlleva.

En penúltimo lugar, mencionar que para el desarrollo de esta tesis disfrute de una beca del Gobierno de Canarias que fue un apoyo económico fundamental, así como una ayuda para realizar la estancia en el extranjero.

Por último, me gustaría agradecer al MAR todo lo que nos da. En particular, para esta tesis fueron lapas, burgados y cañadillas, que se han portado muy bien ya que no han salido corriendo al verme con un cuchillo, no se han quejado cuando los abría con el bisturí, ni siquiera al tocarles y cortarles el pene. Gracias¡¡.

RESUMEN

Este estudio presenta la utilización de diferentes especies de moluscos gasterópodos como bioindicadores en el Archipiélago Canario. Su principal objetivo es la obtención de una herramienta que proporcione información de manera rápida y fiable sobre la calidad del medio ambiente y sobre el estado de conservación de los ecosistemas naturales. Concretamente, se seleccionaron seis especies de moluscos gasterópodos ampliamente extendidos en la zona intermareal rocosa, como fueron las lapas (*Patella* spp.), los burgados (*Osilinus* spp.) y la cañadilla (*Stramonita haemastoma*). Se analizaron diferentes temas abarcando desde procesos naturales hasta causas de origen humano. Así, en el primer capítulo se estudió la variabilidad espacial y temporal sobre la distribución, la abundancia y la talla de dichos organismos. Esta información sirve como base y es útil para valorar el efecto de futuras alteraciones sobre sus poblaciones. En este sentido, en el segundo capítulo se utilizaron los moluscos gasterópodos para demostrar el efecto negativo de la influencia humana, como la provocada por el marisqueo no regulado. En el tercer capítulo se seleccionó a *Osilinus atrata* como biomonitor para medir el grado de contaminación metálica en el medio ambiente y como posible fuente de contaminantes para el ser humano. Por último, en el cuarto capítulo se utilizó a *S. haemastoma* como bioindicador de la contaminación por compuestos orgánicos de estaño, particularmente TBT, la cual provoca el conocido “imposex”. Como conclusión final se puede decir que: los moluscos gasterópodos son grandes bioindicadores sobre la calidad del medio ambiente y sobre el estado de conservación de los ecosistemas naturales en el Archipiélago Canario.

SUMMARY

This study presents the utilization of different species of gastropod molluscs as bioindicators in the Canarian Archipelago. Its objective is to obtain a tool which provides quickly and reliable information about the quality of the environment and state of conservation of natural ecosystems. Concretely, six species of gastropod molluscs widely extended through the intertidal zone were selected, which were the commonly known as limpets (*Patella* spp.), troquids (*Osilinus* spp.) and the muricid (*Stramonita haemastoma*). This study undertakes different themes from natural processes to those originated by humans. Thus, in the first chapter the spatial and temporal variability on the distribution, abundance and size of such organisms was studied. This information serves as base and it is useful to estimate the effect of future impacts on the populations of such organisms. In the second chapter, gastropod molluscs were utilized to show the effect of human pressure, by means of human harvesting, on their populations. In the third chapter, *Osilinus atrata* was selected as biomonitor to measure the grade of metal contamination on the environment and possible source of contaminants to human being. Lastly, in the fourth chapter *Stramonita haemastoma* was utilized as bioindicator of organotin compounds, particularly TBT, which provokes “imposex”. As final conclusion it may be concluded that: gastropod molluscs are great bioindicators of the quality of the environment and the state of conservation of the natural ecosystems in the Canarian Archipelago.

ÍNDICE – *Index*

| | |
|---|------|
| Lista de abreviaturas | [1] |
| Lista de figuras | [3] |
| Lista de tablas | [7] |
| Introducción general | |
| 1. Consideraciones generales | [11] |
| 2. Moluscos como bioindicadores | [13] |
| 3. Idoneidad del Archipiélago Canario para este estudio | [15] |
| 4. Referencias | [18] |

CAPÍTULO 1. Variabilidad espacial y temporal en la distribución y abundancia de moluscos gasterópodos en las costas rocosas de las Islas Canarias (Atlántico oriental)

| | |
|---|------|
| 1. Introducción | [23] |
| 2. Material y Métodos | |
| 2.1. Área de estudio | [27] |
| 2.2. Estructura de la comunidad y especies estudiadas | [29] |
| 2.3. Diseño y técnica del muestreo | [31] |
| 2.4. Análisis estadístico | [32] |
| 3. Resultados | |
| 3.1. Plataformas intermareales y complejidad del sustrato | [34] |
| 3.2. Especies estudiadas | |
| 3.2.1. <i>Osilinus atrata</i> | [36] |
| 3.2.2. <i>Osilinus sauciatus</i> | [39] |
| 3.2.3. <i>Patella aspera</i> | [45] |
| 3.2.4. <i>Patella candei crenata</i> | [47] |
| 3.2.5. <i>Patella rustica</i> | [48] |
| 3.2.6. <i>Stramonita haemastoma</i> | [49] |
| 4. Discusión | [51] |
| 5. Referencias | [68] |

CAPÍTULO 2. Efectos potenciales del marisqueo sobre moluscos gasterópodos de interés comercial (*Osilinus* spp. y *Patella* spp.) en el Archipiélago Canario

| | |
|---|-------|
| 1. Introducción | [91] |
| 2. Material y Métodos | |
| 2.1. Área de estudio y diseño muestral | [93] |
| 2.2. Especies estudiadas y método de muestreo | [96] |
| 2.3. Análisis de datos | [96] |
| 3. Resultados | |
| 3.1. Burgados | [97] |
| 3.2. Lapas | [101] |
| 4. Discusión | [105] |
| 5. Referencias | [113] |

CAPÍTULO 3. Uso de *Osilinus atrata* como biomonitor de metales pesados (Cd, Cu, Pb y Zn) en el Archipiélago Canario

| | |
|---|-------|
| 1. Introducción | [121] |
| 2. Material y métodos | |
| 2.1. Área de estudio y especie seleccionada | [128] |
| 2.2. Preparación del material y técnica de muestreo | [130] |
| 2.3. Digestión y análisis | [131] |
| 2.4. Análisis estadístico | [137] |
| 3. Resultados | |
| 3.1. Variación espacial y efecto del sexo sobre las concentraciones metálicas | [139] |
| 3.2. Consumo humano | [144] |
| 4. Discusión | [145] |
| 5. Referencias | [156] |

CAPÍTULO 4. Imposex y acumulación de compuestos orgánicos de estaño en poblaciones de *Stramonita haemastoma* de las Islas Canarias, España

| | |
|--|-------|
| 1. Introducción | [171] |
| 2. Material y métodos | |
| 2.1. Área de estudio y diseño muestral | [175] |
| 2.2. Medida del imposex | [179] |
| 2.3. Análisis de compuestos orgánicos de estaño | [181] |
| 2.4. Análisis estadístico | [183] |
| 3. Resultados | |
| 3.1. Talla y longitud del pene | [184] |
| 3.2. Imposex | [185] |
| 3.3. Concentración de compuestos orgánicos de estaño | [187] |
| 4. Discusión | [190] |
| 5. Referencias | [199] |
| | |
| Conclusiones - <i>Conclusions</i> | [211] |
| | |
| Anexo A. <i>Chapter 1</i> | [219] |
| Anexo B. Capítulo 3 | [263] |
| Anexo C. <i>Chapter 4</i> | [271] |
| Anexo D. <i>Curriculum vitae</i> | [299] |

LISTA DE ABREVIATURAS – *List of abbreviations*

| | |
|--------------|--|
| AC | Archipiélago Chinijo (<i>Chinijo Archipelago, CA</i>) |
| AG | Alegranza |
| ANOVA | Análisis de la varianza (<i>Analysis of variance</i>) |
| Cd | Cadmio (<i>Cadmium</i>) |
| cm | Centímetro (s) (<i>Centimetre</i>) |
| Cm | Cuadrados medios (<i>Mean squares, Ms</i>) |
| Cu | Cobre (<i>Copper</i>) |
| Cv | Componentes de la varianza (<i>Variance components, Vc</i>) |
| DE | Desviación estándar (<i>Standard deviation, SD</i>) |
| DBT | Dibutilo de estaño (<i>Dibutyltin</i>) |
| dcha. | Derecha (<i>Right</i>) |
| EE | Error estándar (<i>Standard error, SE</i>) |
| F | Fuerteventura |
| G | La Gomera |
| g | Gramo (s) (<i>Gram</i>) |
| GC | Gran Canaria |
| gl | Grados de libertad (<i>Degrees of freedom, df</i>) |
| h | Hora (s) (<i>Hour, hr</i>) |
| H | El Hierro |
| IC | Intervalos de confianza (<i>Confidence intervals, CI</i>) |
| izq. | Izquierda (<i>Left</i>) |
| ISTAC | Instituto Canario de Estadística (<i>Canary Institute of Statistics</i>) |
| IR | Luz infrarroja (<i>Infrared light</i>) |
| Km | Kilómetro (s) (<i>Kilometre</i>) |
| L | Lanzarote |
| LG | La Graciosa |
| m | Metro (s) (<i>Metre</i>) |
| Ma. | Millones de años (<i>Millions of years, My.</i>) |
| mm | Milímetros (<i>Millimetre</i>) |

| | |
|---------------|---|
| ml | Mililitro (s) (<i>Millilitre</i>) |
| µl | Microlitro (s) (<i>Microlitre</i>) |
| máx. | Máximo (<i>Maximum</i>) |
| min | Minuto (s) (<i>Minute</i>) |
| mín. | Mínimo (<i>Minimum</i>) |
| N | Normal (<i>Normal</i>) |
| P | La Palma |
| Pb | Plomo (<i>Lead</i>) |
| p. ej. | Por ejemplo (<i>for example</i>) |
| p. s. | Peso seco (<i>Dry weight</i>) |
| RM | Reserva Marina (<i>Marine reserve</i>) |
| rpm | Revoluciones por minuto (<i>Revolutions per minute</i>) |
| RPLI | Índice de la longitud relativa del pene (<i>Relative Penis Length Index</i>) |
| RPSI | Índice del tamaño relativo del pene (<i>Relative Penis Size Index</i>) |
| s | Segundo (s) (<i>Second</i>) |
| SC | Suma de cuadrados (<i>Sum of squares, Ss</i>) |
| SNK | <i>Student Newman Keuls</i> |
| T | Tenerife |
| TBT | Tributilo de estaño (<i>Tributyltin</i>) |
| TOT | Total de compuestos orgánicos de estaño (<i>Total organotin compounds, TOT</i>) |
| UE | Unión Europea (<i>European Union, EU</i>) |
| VDSI | Índice de la secuencia del vaso deferente (<i>Vas Deferens Sequence Index</i>) |
| W | Vatios (<i>Wattios, W</i>) |
| Zn | Cinc (<i>Zinc</i>) |

LISTA DE FIGURAS – *List of figures*

Capítulo 1:

- **Figura 1.** Muchos organismos intermareales (ej. lapas, tróquidos, etc.) muestran una distribución variable sobre las costas rocosas.
- **Figura 2.** Mapa del Archipiélago Canario mostrando las localidades muestreadas y sus orientaciones.
- **Figura 3.** Zonas intermareales: alta (negra a la izquierda), media (amarilla en el medio) y baja (marrón a la derecha).
- **Figura 4.** Clasificación taxonómica de los moluscos estudiados.
- **Figura 5.** Técnica de muestreo intermareal y detalle de la medición de la talla sobre una lapa.
- **Figura 6.** (A) Longitud media total de las plataformas y de cada zona intermareal (distancia entre líneas) para cada isla, estas son: El Hierro (H), La Palma (P), La Gomera (G), Gran Canaria (GC), Fuerteventura (F), Lanzarote (L), Archipiélago Chinijo (AC). La edad de las islas fue indicada en millones de años (Ma.); (B) Complejidad del sustrato, dado como cobertura de grietas y huecos, en cada zona intermareal.
- **Figura 7.** Densidad media de *Osilinus* spp. en cada zona intermareal por isla y tiempo de muestreo (abreviaturas como en la figura 6).
- **Figura 8.** Diagrama de frecuencia de talla de *Osilinus* spp. en cada tiempo de muestreo. Las marcas indican donde está situada la talla media.
- **Figura 9.** Talla media de los moluscos estudiados en cada isla (abreviaturas como en la figura 6) y tiempo de muestreo. Las diferencias significativas (IC 95 %) entre tiempos fueron indicados con letras, mientras que la misma o ninguna letra significa sin diferencia.
- **Figura 10.** Talla media en cada zona intermareal para el total de ejemplares registrados por tiempo de muestreo. Las diferencias significativas (IC 95 %) entre las zonas de muestreo fueron indicadas con diferentes letras, mientras que la misma o ninguna letra significan sin diferencia. * Solamente un ejemplar.

- **Figura 11.** Densidad media de *Patella* spp. en cada zona intermareal por isla y tiempo de muestreo (abreviaturas como en la figura 6).
- **Figura 12.** Diagrama de frecuencia de talla de *Patella* spp. en cada tiempo de muestreo. Las marcas indican donde está situada la talla media.
- **Figura 13.** Densidad media de *Stramonita haemastoma* en cada zona intermareal por isla y tiempo de muestreo (abreviaturas como en la figura 6).
- **Figura 14.** Diagrama de frecuencia de talla de *Stramonita haemastoma* en cada tiempo de muestreo. Las marcas indican donde esta situada la talla media.
- **Figura 15.** Patrones de distribución espacial de los tróquidos (A), el murícido (A) y las lapas (B) a lo largo del eje vertical en las costas rocosas de las Islas Canarias.
- **Figura 16.** Grieta en la zona media ocupada por tróquidos (*Osilinus atrata*) y lapas (*Patella rustica*);
- **Figura 17.** La agregación de tróquidos (*Osilinus sauciatius*) puede reducir el efecto de la desecación y la acción del oleaje.
- **Figura 18.** *Patella aspera* (fotografía de la izq.) y *Patella rustica* (fotografía de la dcha.) mostraron interacción con las algas coralínáceas costrosas y los sacabocados en las zonas baja y media, respectivamente.
- **Figura 19.** El afloramiento costero que ocurre en la costa noroeste de África provoca el ascenso de aguas sub-superficiales frías y ricas a la superficie que constantemente alcanzan el Archipiélago Canario (p. ej. Llinás *et al.*, 1994; Davenport *et al.*, 2002). La imagen de arriba muestra la temperatura superficial del mar, la cual está varios grados más baja en las islas orientales que en las occidentales. Imagen suministrada por SEAS-Canarias (ULPGC).

Capítulo 2:

- **Figura 1.** Concheros modernos (fotografía de la izq.) y antiguos (fotografía de la dcha.) atestiguan el continuo marisqueo ocurrido en Canarias.
- **Figura 2.** Área de estudio. **A:** Posición del Archipiélago Canario respecto del continente africano y europeo. **B:** Posición de la zona de estudio en el extremo oriental del Archipiélago. **C:** Posición de

las localidades de muestreo (●) en Lanzarote, La Graciosa y Alegranza (el cuadrado gris indica el área de reserva marina. **D**: detalle de las localidades muestreadas en Alegranza y La Graciosa.

- **Figura 3.** Densidad media por localidad de *Osilinus atrata* y *Osilinus sauciatus*. EE: error estándar.
- **Figura 4.** Diagrama de frecuencia de tallas para *Osilinus atrata* y *Osilinus sauciatus*.
- **Figura 5.** Densidad media por localidad de *Patella aspera*, *Patella candei crenata* y *Patella rustica*. EE: error estándar.
- **Figura 6.** Diagrama de frecuencia de tallas para *Patella aspera*, *Patella candei crenata* y *Patella rustica*.
- **Figura 7.** Las marcas que quedan en la superficie de las rocas al extraer una lapa (fotografía de la izq.) son muy frecuentes en zonas con fuerte presión marisquera. Las lapas recolectadas (p. ej. lapas blancas) son mayoritariamente vendidas a restaurantes de comida canaria, que las ofrecen como un plato típico (fotografía de la dcha.).
- **Figura 8.** La densidad de lapas (*Patella aspera* en la fotografía) encontrada en AG es la más alta del Archipiélago Canario (R. Ramírez, datos sin publicar).

Capítulo 3:

- **Figura 1.** Área experimental y localidades de muestreo. 1. Punta Abades; 2. El Corral; 3. El Cochino; 4. El Cotillo; 5. Taliarte; 6. Malpaís de Guímar; 7. Punta Llana; 8. Punta Cumplida; 9. La Restinga.
- **Figura 2.** Proceso de secado bajo lámparas de luz IR.
- **Figura 3.** Microondas (ETHOS-PRO) utilizado para la digestión de las muestras. En la fotografía de la derecha se observa con detalle el dispositivo de control automático de la temperatura (ATC-400CE) dentro de uno de los vasos.
- **Figura 4.** Espectrofotómetro de absorción atómica de llama.
- **Figura 5.** Concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$). La línea de los diagramas caja representa la mediana (percentil 50) y la caja el primer (percentil 25) y tercer cuartil (percentil 75). Los puntos representan los valores raros o “outliers”. 1: Punta Abades; 2: El Corral; 3: El Cochino; 4: El Cotillo; 5: Taliarte; 6: Malpaís de Guímar; 7: Punta Llana; 8: Punta Cumplida; 9: La Restinga.

- **Figura 6.** Concentración (media \pm E.E.) de Cd, Cu, Pb y Zn para la variabilidad espacial considerada (1: Punta Abades; 2: El Corral; 3: El Cochino; 4: El Cotillo; 5: Taliarte; 6: Malpaís de Guímar; 7: Punta Llana; 8: Punta Cumplida; 9: La Restinga.). Se indican con líneas los contenidos máximos permitidos en moluscos bivalvos ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco) de consumo humano. También, a modo de referencia, se indica el límite de Cu (actualmente derogado) que fue establecido para moluscos bivalvos y gasterópodos por la legislación española.
- **Figura 7.** Concentración (media \pm E.E.) de Cd, Cu, Pb y Zn según el sexo (neutro, macho o hembra).

Capítulo 4:

- **Figura 1.** El crecimiento del *fouling*, es decir, material biológico indeseado tales como algas y sacabocacos, reducen la navegabilidad de los barcos (fotografía de la izq.). El uso de pinturas anti-incrustantes, en cambio, prolonga la conservación y facilitan el movimiento de los mismos (fotografía de la dcha.).
- **Figura 2.** Mapa que muestra la localización de todos los puertos canarios dependiendo de su actividad (● Mercancías y/o pasajeros, ▲ Pesca, □ Recreo). El número 1 indica el puerto más importante en cada isla, el resto, en el sentido de las agujas del reloj, son nombrados debajo del mapa. La localización aproximada de las localidades de muestreo se indica con líneas (\Rightarrow).
- **Figura 3.** Para el estudio de los ejemplares de *Stramonita haemastoma* se utilizó un microscopio binocular (fotografía de la izq.). Detalle de un pene (señalado con una línea de puntos) sobre un ejemplar (fotografía de la dcha.).
- **Figura 4.** Una de las fases para la extracción de compuestos orgánicos de estaño (fotografía de la izq.). Espectrofotómetro de absorción atómica utilizado para medir los niveles de tales compuestos (fotografía de la dcha.).
- **Figura 5.** Índices de imposex, RPSI, RPLI, VDSI y proporción de sexos (m: machos; h: hembras).
- **Figura 6.** Concentración media (ng Sn g^{-1} peso seco) de TBT, DBT y TOT para los ejemplares macho y hembra de *Stramonita haemastoma* en las diferentes localidades analizadas por isla. Los valores marcados con un asterisco (*) proceden de ejemplares analizados individualmente.

LISTA DE TABLAS – *List of tables*

Capítulo 1:

- **Tabla 1.** ANOVA sobre la abundancia de los moluscos estudiados. Los números en negrita indican significación.
- **Tabla 2.** Resultados de los análisis de los componentes de la varianza para *Osilinus atrata* en cada tiempo de muestreo.
- **Tabla 3.** Comparación de la talla media entre pares de islas por medio de intervalos de confianza (95 %) (abreviaturas como en la figura 6). Las islas localizadas en la columna izquierda pueden mostrar una talla mayor (>), menor (<) o similar (\approx) que aquellas en la fila superior. * La ausencia de ejemplares en alguna de las islas no permitió ejecutar comparaciones. *Osilinus sauciatus* sólo existió en las islas orientales.
- **Tabla 4.** Resultados de los análisis de los componentes de la varianza para los moluscos gasterópodos estudiados (excepto *Osilinus atrata*, ver tabla 2).

Capítulo 2:

- **Tabla 1.** Características de las localidades estudiadas. *: Sin población.
- **Tabla 2.** Estimación de los indicadores de influencia humana para las tres islas estudiadas. Fuentes: Instituto Canario de Estadística (ISTAC), Fernández-Palacios y Martín (2001), Cabrera y Cabrera (2004), Viceconsejería de Agricultura, Ganadería y Pesca (Gobierno de Canarias), Centro de datos (Cabildo de Lanzarote) y estimaciones propias.
- **Tabla 3.** Resultados del ANOVA contrastando las diferencias de abundancia para *Osilinus atrata*, *Osilinus sauciatus*, *Patella aspera*, *Patella candei crenata* y *Patella rustica* entre islas y localidades. gl: grados de libertad; Cm: suma de cuadrados medios; F: valor del estadístico de Fisher. Nivel de significación: * $0.01 < p < 0.05$; ** $p < 0.01$.
- **Tabla 4.** Valores del estadístico χ^2 para la comparación de la estructura de tallas de cada especie entre islas (=niveles de influencia humana). gl: grados de libertad. Nivel de significación: * $p < 0.01$.

Capítulo 3:

- **Tabla 1.** Fuentes de procedencia de los metales estudiados.
- **Tabla 2.** Rangos (mín. – máx.) de altura, anchura y peso seco sobre el número total (n) de ejemplares recolectados por localidad. 1: Punta Abades; 2: El Corral; 3: El Cochino; 4: El Cotillo; 5: Taliarte; 6: Malpaís de Guímar; 7: Punta Llana; 8: Punta Cumplida; 9: La Restinga.
- **Tabla 3.** Resultados del análisis del material de referencia ERM® – CE278 (tejido de mejillón).
- **Tabla 4.** Parámetros instrumentales generales y matrices modificadoras utilizadas.
- **Tabla 5.** Rangos (min. – máx.) de las concentraciones metálicas registradas. 1: Punta Abades; 2: El Corral; 3: El Cochino; 4: El Cotillo; 5: Taliarte; 6: Malpaís de Guímar; 7: Punta Llana; 8: Punta Cumplida; 9: La Restinga.
- **Tabla 6.** Resultados del ANOVA sobre la concentración metálica.
- **Tabla 7.** Resultados del test de Tukey para la comparación de los contenidos metálicos entre islas.
- **Tabla 8.** Rangos de concentración metálica (min. – máx.) registrados para moluscos gasterópodos (lapas y burgados) en el Archipiélago Canario.

Capítulo 4:

- **Tabla 1.** Descripción de las localidades de muestreo.
- **Tabla 2.** Medidas de la talla y la longitud del pene en *Stramonita haemastoma*.
- **Tabla 3.** Resultados del test de Mann-Whitney (Wilcoxon) para la comparación entre los niveles de compuestos orgánicos de estaño en las localidades situadas dentro, cerca o lejos de los puertos.
- **Tabla 4.** Resultados del test de Mann-Whitney (Wilcoxon) para la comparación de los niveles de compuestos orgánicos de estaño en ejemplares macho y hembra en localidades situadas dentro, cerca o lejos de los puertos.
- **Tabla 5.** Resultados previos de imposex para *Stramonita haemastoma* en diferentes áreas geográficas.

Introducción General

1. CONSIDERACIONES GENERALES

Los ecosistemas están expuestos de forma natural a numerosos factores estresantes bióticos y abióticos tales como enfermedades, competición entre especies, relación predador-presa, fluctuaciones en el clima, etc. Esta situación de estrés, más allá de ser negativa, ha sido vital para la propia evolución de los ecosistemas en su conjunto y de la especies en particular. Hasta ahora, las especies eran capaces de reaccionar y adaptarse ante estas situaciones de estrés; sin embargo, los humanos han cambiado los ecosistemas más rápidamente y extensamente en los últimos 50 años que en cualquier período de tiempo comparable en la historia humana (Millenium Ecosystem Assessment, 2005). Por esta razón, muchas especies han desaparecido ya que han sido incapaces de adaptarse y evolucionar ante las nuevas situaciones de estrés, produciéndose un descenso alarmante de la biodiversidad mundial.

Las zonas costeras constituyen territorios únicos desde los puntos de vista ecológico, económico y social, lo que ha provocado que los humanos hayan escogido dichas áreas para residir. Por ejemplo, en las zonas costeras europeas la población es de media un 10 % superior a la de las zonas interiores, llegando en algunos países al 50 % (EEA, 2006). Esta gran concentración humana genera un uso y, en muchos casos, un abuso de este espacio reducido, así como de los recursos que allí existen. En este sentido, los ecosistemas costeros se encuentran entre los más afectados por las actividades humanas. Particularmente, la accesibilidad a las costas rocosas – hábitat litoral más común a lo largo del planeta – las ha sometido a una variedad de impactos humanos originados tanto desde tierra como desde el mar (Thompson *et al.*, 2002). Probablemente, el primer impacto de los humanos sobre las costas rocosas fue la explotación de sus recursos vivos, es decir, la

recolección de organismos como comida o carnada. Este impacto es aún considerable en múltiples países, como por ejemplo en Italia o España. Por otro lado, aunque la presencia en el medio ambiente de sustancias químicas es un fenómeno natural, entre las nuevas presiones generadas por el hombre destaca la liberación al medio ambiente de nuevas sustancias antes no presentes en el mismo, o simplemente un aumento de las concentraciones de las ya existentes. Así, en la actualidad se liberan al medio ambiente más de 100.000 sustancias, de las cuales más de 100 son consideradas peligrosas para el medio marino ya que son tóxicas, persistentes y bioacumulativas (Seoánez, 2000; Baan y Broeneveld, 2002).

En las últimas décadas, los esfuerzos de la comunidad científica se han centrado en el conocimiento del impacto de los contaminantes sobre el medio ambiente y, particularmente, sobre el medio marino. Como resultado han aparecido nuevas perspectivas sobre los temas de contaminación, como la ecotoxicología. Esta nueva ciencia se puede definir como: *“el estudio de los principios científicos y los métodos que hacen posible identificar y evaluar la interferencia causada por las sustancias introducidas a través de la actividad humana”* (Market *et al.* 2003); ésta se basa en la utilización de organismos vivos como las herramientas esenciales para la evaluación de la calidad ambiental. La ecotoxicología ha sufrido un gran desarrollo en los últimos años, lo que ha provocado la aparición de multitud de publicaciones sobre el tema. Al mismo tiempo han aparecido gran cantidad de definiciones que, muchas veces, pueden incluso confundir. En este caso se seleccionaron las definiciones e ideas aportadas por Market *et al.* (2003). Según estos autores dentro de la ecotoxicología se han desarrollado dos nuevas ciencias, la bioindicación y el biomonitoreo, que se refieren al uso de bioindicadores y biomonitores,

respectivamente. Ellos definen bioindicador como “*un organismo (o parte de un organismo o una comunidad de organismos) el cual contiene información sobre la calidad del ambiente (o parte del ambiente)*”, mientras que, un biomonitor como “*un organismo (o parte de un organismo o una comunidad de organismos) el cual contiene información sobre los aspectos cuantitativos de la calidad del ambiente*”; éste último también es siempre un bioindicador (Market *et al.*, 2003). La bioindicación y el biomonitoreo pueden ser activos o pasivos según la procedencia de los organismos utilizados. Así, se consideran activos cuando los organismos se mantienen en el laboratorio, mientras que pasivos si éstos permanecen de manera natural en los ecosistemas (modalidad desarrollada en este estudio). Por otro lado, según el modo de acción de los organismos se puede hablar de organismos indicadores/biomonitores de acumulación, como aquellos que acumulan uno o más elementos y/o compuestos desde el ambiente (p. ej. *Osilinus atrata* en este estudio); u organismos indicadores/biomonitores de impacto, los cuales demuestran efectos específicos o inespecíficos en respuesta a la exposición a un elemento o compuesto particular o a un número de sustancias (p. ej. *Stramonita haemastoma* en este estudio).

Entre los múltiples grupos de organismos utilizados para temas de bioindicación y/o biomonitoreo destacan los moluscos. En el siguiente apartado se exponen las principales características que los han convertido en adecuados bioindicadores y/o biomonitores.

2. MOLUSCOS COMO BIOINDICADORES

Los moluscos, después de los artrópodos, constituyen el grupo más diverso en el reino animal. Hay descritas cerca de 93.000 especies, incluyendo algunos de los invertebrados más conocidos como las caracolas o los pulpos (Brusca y Brusca, 2005).

Éstos son mayoritariamente marinos aunque sus adaptaciones morfológicas les han permitido colonizar ambientes dulceacuícolas e incluso terrestres. Por tanto, los moluscos están ampliamente distribuidos a lo largo del planeta y, en muchos casos, son considerados organismos clave determinando la organización de algunos ecosistemas. Dentro de éstos, los gasterópodos son el grupo más representativo, con aproximadamente un 80 % de las especies. Así, por su importancia ecológica y por su enorme diversidad, los moluscos en general, y en particular los gasterópodos, son considerados adecuados para su uso como bioindicadores y/o biomonitores. Las características más importantes son (extraído de Oehlmann & Schulte-Oehlmann, 2003 y parcialmente modificado):

- Los gasterópodos están difundidos y son abundantes en todos los ecosistemas marinos, de aguas dulces e incluso terrestres.
- Los moluscos, especialmente los marinos, exhiben una amplia distribución dentro e incluso entre continentes, facilitando su uso en estudios a gran escala geográfica.
- Muchos moluscos son especies clave para el funcionamiento de los ecosistemas, así que algún efecto negativo sobre sus poblaciones afectará a todo el ecosistema.
- La mayoría de los gasterópodos son especies con movilidad reducida o son completamente sésiles como adultos, representando así lo que sucede en sus hábitats de una forma ideal.
- Los moluscos representan una amplia variedad de modos reproductivos, exhibiendo una extraordinaria variación de estrategias de ciclos de vida, especialmente con respecto a su longevidad. Esto último permite realizar estudios integradores sobre largos períodos de tiempo.

- La mayoría de los gasterópodos poseen suficiente tamaño, y por tanto tejidos blandos, para ser capturados y manejados tanto en el campo como en el laboratorio, así como ser utilizados para análisis posteriores.
- Los moluscos no presentan exoesqueleto, existiendo un contacto directo con el medio (ej. agua); por tanto, los contaminantes, a parte de la dieta, pueden ser incorporados por el tegumento o las vías respiratorias en especies acuáticas.
- Los moluscos presentan limitada capacidad para excretar por los órganos excretores o tejidos. Como consecuencia pueden exhibir altas concentraciones contaminantes en comparación con otros grupos. Éstas, por tanto, pueden producirles efectos negativos a bajas concentraciones ambientales.
- Los moluscos presentan una alta sensibilidad a contaminantes ambientales, quedando patente en su exagerada contribución a la “lista roja” de especies amenazadas del mundo.
- La mayoría de los gasterópodos presentan una organización interna y especialmente una morfología e histología fáciles de caracterizar, mientras que el conocimiento de su biología y ecología ha mejorado mucho en las últimas décadas.
- Los efectos biológicos del estrés ambiental y particularmente de la exposición a contaminantes son detectables a varios niveles de organización biológica (desde moléculas hasta comunidades).

3. IDONEIDAD DEL ARCHIPIÉLAGO CANARIO PARA ESTE ESTUDIO

Las islas oceánicas, como las Islas Canarias, atrajeron la atención de los científicos desde pronto, siendo consideradas laboratorios naturales donde investigar (Fernández-Palacios y Martín, 2001). En este sentido, la naturaleza en Canarias es excepcionalmente

diversa superando en el medio marino las 5000 especies, de las cuales aproximadamente 1200 son moluscos y de éstos el 60 % moluscos gasterópodos (Haroun y Herrera, 2001; Moro *et al.*, 2003). Al mismo tiempo, los sistemas insulares son territorios muy frágiles, en donde la acción humana puede ser altamente perjudicial; en el caso del Archipiélago la densidad poblacional es excepcionalmente alta, alcanzando los 279 hab. Km⁻². En cuanto a las zonas costeras hay que destacar que la línea costera canaria mide más 1500 Km de longitud, lo que la convierte en la de mayor longitud del territorio nacional. Sobre ésta, además de la destrucción del hábitat con la construcción de estructuras duras (p. ej. muelles, diques, playas artificiales, etc.), que ya cubren entre un 5 y un 10 % del litoral costero del Archipiélago (Ramírez *et al.*, 2008), hay que sumar los efectos de la contaminación. Algunos aspectos de la problemática local están asociados a: (1) escasez de instalaciones adecuadas para el reciclado de residuos tóxicos y peligrosos, (2) vertido de aguas residuales urbanas e industriales, así como aguas agrícolas, no controladas o poco tratadas que contienen, por ejemplo, metales pesados, (3) vertido de hidrocarburos u otras sustancias químicas contaminantes (p. ej. TBT) desde los puertos o los buques en tránsito. Finalmente, también hay que considerar la explotación que desde épocas prehistóricas se viene realizando de los recursos vivos presentes sobre las costas canarias (Ramírez *et al.*, 2008). Esta explotación parece haber reducido drásticamente las poblaciones de algunas especies, llevando a otras incluso al borde de la extinción (p. ej. *Patella candei*, lapa mayorera).

En el futuro, la prosperidad social y económica en el Archipiélago Canario debe ser compatible con el respeto al medio ambiente, como marcan las nuevas políticas y directrices medioambientales tanto europeas como mundiales sobre sostenibilidad. Así,

existe la necesidad de poseer medidas rápidas y fiables sobre el estado de la calidad del medio ambiente. En este sentido, y para el ámbito del medio marino, se propone la realización de este estudio en la zona costera canaria debido a sus singularidades: (1) zona donde se concentra la mayor parte de la población, (2) zona de conexión entre el medio terrestre y marino donde se vierten gran cantidad de contaminantes, (3) zona donde se concentra una gran biodiversidad, (4) zona donde existe un alto número de especies protegidas y (5) zona donde se concentran la mayoría de los recursos marisqueros de consumo humano.

Por tanto, en este estudio se plantea que, diversas especies de moluscos gasterópodos presentes en las costas rocosas del Archipiélago Canario pueden utilizarse como bioindicadores para detectar tanto el efecto de determinadas sustancias químicas perjudiciales introducidas por el humano como diversos procesos naturales y actividades humanas de interés. A través de este estudio se ofrecerá una información valiosa sobre el estado de conservación y la calidad ambiental de la zona costera canaria, la cual será útil tanto a nivel científico como político para la gestión y manejo de los ecosistemas naturales.

4. REFERENCIAS

- Baan, P. J. A. y Groeneveld, G. J. J. 2002. *Testing of indicators for the marine and coastal environment in Europe. Part 2: Hazardous substances*. EEA. Technical report, nº85. p. 38.
- Brusca, R. C. y Brusca, G. J. 2005. *Invertebrados*. Madrid: McGraw-Hill Interamericana, p. 1005.
- EEA. 2006. *The changing faces of Europe's coastal areas*. Report nº 6. Copenhagen, p. 107.
- Fernández-Palacios, J. M. y Martín, J. L. 2001. Las islas como experimento de laboratorio, en Fernández-Palacios, J. M. y Martín, J. (Dir. y Coord.). *Naturaleza de las Islas Canarias. Ecología y Conservación*. Santa Cruz de Tenerife: Turquesa, p. 39-44.
- Haroun, R. y Herrera, R. 2001. Diversidad taxonómica marina, en Fernández-Palacios, J. M. y Martín, J. (Dir. y Coord.). *Naturaleza de las Islas Canarias. Ecología y Conservación*. Santa Cruz de Tenerife: Turquesa, p. 127-131.
- Market, B. A., Breure, A. M. y Zechmeister, H. G. 2003. Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment, in Market, B. A., Breure, A. M. y Zechmeister, H. G. *Bioindicators and biomonitors. Principles, concepts and applications*. Oxford: Elsevier, p. 941.
- Millenium Ecosystem Assessment. 2005. *Ecosystems and Human Well-being: Synthesis*. Washington, DC: Island Press, p. 137.
- Moro, L. Martín, J. L., Garrido, M. J. y Izquierdo, I. (eds.) 2003. *Lista de especies marinas de Canarias (algas, hongos, plantas y animales) 2003*. Consejería de Política Territorial y Medio Ambiente del Gobierno de Canarias, p. 248.

- Oehlmann, J. y Schulte-Oehlmann, U. 2003. Molluscs as bioindicators, in Markert, B. A., Breure, A. M. y Zechmeister, H. G. *Bioindicators and biomonitors. Principles, concepts and applications*. Oxford: Elsevier, p. 941.
- Ramírez, R., Tuya, F. y Haroun, R. J. 2008. *El Intermareal Canario. Poblaciones de lapas, burgados y cañadillas*. Las Palmas de Gran Canaria: BIOGES, p. 54.
- Seoánez, M. 2000. *Manual de contaminación marina y restauración del litoral*. Madrid: Ediciones Mundi-presa, p. 565.
- Thompson, R. C., Crowe, T. P. y Hawkins, S. J. 2002. Rocky intertidal communities: past environmental changes, present status and predictions for the next 25 years. *Environmental Conservation*, 29 (2): 168-191.

Variabilidad espacial y temporal en la distribución y abundancia de moluscos gasterópodos en las costas rocosas de las Islas Canarias (Atlántico oriental)



Capítulo

1



1. INTRODUCCIÓN

Los sistemas ecológicos son variables de forma natural tanto espacial como temporalmente. En los ecosistemas costeros marinos, diversos procesos físicos, biológicos y antropogénicos interactúan para generar y mantener patrones variables (Dayton, 1971; Castilla y Durán, 1985; Menge y Sutherland, 1987; Alfaro y Carpenter, 1999; Harley y Helmuth, 2003). Esta inconsistencia es un impedimento para hacer generalizaciones en la búsqueda de reglas ecológicas generales (Levin, 1992; Underwood y Chapman, 1996; Benedetti-Cecchi *et al.*, 2000; Fraschetti *et al.*, 2005). Para comprender que importancia tienen los procesos implicados, además de para elaborar modelos que expliquen los patrones de distribución y abundancia de los organismos, las escalas espaciales de variación relevantes deben ser identificadas inicialmente (Levin, 1992; Horne y Schneider, 1995; Underwood y Chapman, 1996, Hewitt *et al.*, 1997; Huston, 1999; Bishop *et al.*, 2002). Además, la replicación temporal es requerida antes de establecer cualquier conclusión general, ya que los patrones espaciales no permanecen necesariamente constantes durante el tiempo (Denny *et al.*, 2004; Fraschetti *et al.*, 2005). Como resultado, los ecólogos han adoptado métodos empíricos abarcando diferentes escalas espaciales y temporales, además de técnicas estadísticas refinadas para el análisis de los datos (p. ej. Underwood y Chapman, 1998; Menconi *et al.*, 1999; Benedetti-Cecchi, 2001; Fraschetti *et al.*, 2005; Anderson *et al.*, 2005; Nakaoka *et al.*, 2006; Coleman *et al.*, 2006b).

Las costas rocosas están afectadas por un amplio rango de mecanismos marinos y terrestres. En unos pocos metros a lo largo del eje vertical, las condiciones ambientales varían extensamente, causando gradientes muy acusados (Bertness, 1999; Helmuth y Hofmann, 2001; Harley y Helmuth, 2003). Esta heterogeneidad influye

sobre la colonización y disposición de los organismos intermareales (Fig. 1), los cuales están colocados sobre la costa mostrando, generalmente, un patrón de zonación en niveles (Colman, 1933; Stephenson y Stephenson, 1949). Importantes estudios sobre la zonación han demostrado que los factores clásicos implicados en dichos patrones verticales (p. ej. exposición al oleaje, desecación, temperatura, etc.) pueden no explicar tales patrones de distribución y abundancia, ya que éstos pueden ser enmascarados por otros procesos potencialmente importantes (Benedetti-Cecchi y Cinelli, 1997; Creese y Kingsford, 1998; Menconi *et al.*, 1999; Benedetti-Cecchi, 2001; Helmuth *et al.*, 2002).



Figura 1. Muchos organismos intermareales (p. ej. lapas y tróquidos) muestran una distribución variable sobre las costas rocosas.

La percepción de los procesos que operan sobre los conjuntos de organismos y sus patrones de distribución y abundancia depende de la escala a la cual el ambiente es observado (Wiens, 1989; Levin, 1992). De hecho, no todos los procesos ocurren a todas las escalas. Existen procesos locales y regionales: los primeros operan a pequeña escala

(menos de m hasta 100s m) y los últimos a grandes escalas (desde 100s hasta 1000s de km), respectivamente. Sin embargo, esta división no es fija, ya que ambos tipos de procesos pueden propagarse a escalas espaciales más pequeñas o grandes (Horne y Schneider, 1995; Huston, 1999; Trush *et al.*, 1997; Benedetti-Cecchi, 2001; Wootton, 2001; Irving *et al.*, 2004), abarcando así, las escalas intermedias (desde km hasta 10s de km). En este sentido, los procesos a pequeña escala pueden ser, al menos, tan importantes como los procesos a gran escala generando patrones en los conjuntos de organismos bentónicos (Fraschetti *et al.*, 2005). Así, estudios detallados a escalas locales son importantes para comprender la variación a escala regional. La variación a pequeña escala parece estar relacionada con diversos procesos como los siguientes: características del hábitat (como el tipo de sustrato y la presencia de elementos estructurales, p. ej. Raffaelli y Hughes, 1978; Chapman, 1994; Archambault y Bourget, 1996; Lemire y Bourget, 1996; Beck, 2000; Underwood, 2004), características del comportamiento (como la competencia, p. ej. Dayton, 1971; Connell, 1972; Branch, 1975; Chapman, 1994; Benedetti-Cecchi *et al.*, 1996; Dunmore y Schiel, 2003) y mecanismos suministradores de larvas (p. ej. Grosberg, 1982; Sousa, 1984; Lemire y Bourget, 1996; Archambault y Bourget, 1999; Hutchinson y Williams, 2001; Johnson *et al.*, 2001; Coleman, 2003). A grandes escalas, sin embargo, estudios biogeográficos tradicionales han aportado perspectivas de los procesos que influyen a todos los conjuntos de organismos. Así, los procesos regionales pueden ser condensados en tres grupos: (1) propiedades geofísicas de una región (p. ej. edad, clima, geología, etc.) (Sagarin *et al.*, 1999), (2) condiciones oceanográficas (p. ej. temperatura del mar, concentración de nutrientes, corrientes, etc.) en ambientes marinos (p. ej. Menge, 2000; Bustamante y Branch, 1996; Broitman *et al.*, 2001; Nakaoka *et al.*, 2006; Mieszkowska *et al.*, 2007) y (3) aspectos ecológicos y evolutivos (p. ej. el ritmo de especiación,

inmigración y extinción) (p. ej. Ricklefs, 1987; Huston, 1999; Brown y Lomolino, 2000).

En los sistemas insulares, diversas características intrínsecas de las islas deben ser consideradas (p. ej. eventos históricos, procesos oceanográficos locales, perturbaciones humanas, etc.), ya que éstas pueden causar patrones diferentes a aquellos típicamente presentes en áreas continentales adyacentes. En este sentido, aunque algunos estudios han sido ejecutados en las costas rocosas del Archipiélago Canario, además de en otros archipiélagos contiguos (Madeira y Azores) dentro de la región Macaronésica (Atlántico central del este) (ver referencias en Hawkins *et al.*, 2000; Nuñez *et al.*, 2003; Wallenstein y Neto, 2006; Martins *et al.*, 2007), pocos de ellos han examinado si los patrones son consistentes a lo largo de diferentes gradientes ambientales en un rango de escalas espaciales y temporales (aunque en Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005, 2009; Tuya *et al.*, 2006; hay algunas comparaciones espaciales). Por consiguiente, el principal objetivo de este estudio fue determinar los patrones espaciales de distribución y abundancia de diversas especies de moluscos gasterópodos representativos en las costas rocosas de las Islas Canarias. Esto fue ejecutado a lo largo de un rango de escalas espaciales horizontales jerárquicamente organizadas desde m hasta 100s de km en tres tiempos e incorporando la variabilidad sobre el eje vertical a lo largo de la costa. Además, algunos aspectos sobre la talla, como por ejemplo la estructura de talla, fueron analizados para cada una de las especies estudiadas.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Área de estudio

Este estudio fue llevado a cabo en las Islas Canarias, España (27-30° N, 13-19° W), a unos 100 km de la costa noroeste de África (Fig. 2). Un total de 32 plataformas rocosas intermareales, incluyendo el grupo de islas al norte de Lanzarote llamado como Archipiélago Chinijo, fueron muestreadas en octubre de 2003 (T1), marzo de 2004 (T2) y octubre de 2004 (T3) (Fig. 2). Las fechas de muestreo correspondieron con el verano e invierno oceanográfico en las Islas Canarias, los cuales son alcanzados en septiembre-octubre (temperatura del mar de 23-25° C) y Febrero-Marzo (16-18° C), respectivamente (Pérez-Martell *et al.* 1996; Haroun, 2001). Las plataformas estaban directamente abiertas al océano y constantemente expuestas a la acción del oleaje (período del orden de segundos) desde prácticamente cualquier dirección (Fig. 2), aunque el oleaje con una componente norte domina en frecuencia. Tanto el régimen y el rango de marea fueron constantes durante todo el estudio, mostrando dos mareas altas y dos mareas bajas cada día (régimen semidiurno) con una amplitud entre 2.7 y 3 m (Afonso, 1988; Lüning y Asmus, 1991).

El origen de las Islas Canarias fue volcánico y ocurrió en diferentes períodos de tiempo (Carracedo, 2001; Hernán, 2001). Las islas orientales (AC, L, F y GC) son, en general, más antiguas que las islas occidentales (T, G, P y H), por lo que han estado sometidas a acciones erosivas (lluvia, tormentas, viento, etc.) durante más tiempo, que ha originado claras diferencias topográficas, particularmente en las costas (Carracedo, 2001; Criado, 2001). Para determinar si las plataformas rocosas presentaron diferencias entre islas, en términos de longitud total por zona intermareal (véase más tarde), este atributo fue medido a lo largo de una línea perpendicular a la costa, usando una cinta

métrica y un jalón. Del mismo modo, la presencia de elementos estructurales (grietas y huecos) en las plataformas fue valorada en una sub-muestra de 1800 cuadrados (600 en cada zona) para estimar la influencia de la complejidad del sustrato sobre la distribución espacial de los organismos bentónicos. Las grietas y los huecos fueron definidos como rendijas suficientemente grandes para albergar cualquier ejemplar de las especies estudiadas (véase más tarde) desde sus tallas mínimas y, aproximadamente, con una relación profundidad-anchura al menos igual a 1. Para medir la superficie de sustrato ocupado por estos elementos estructurales se establecieron 5 rangos de porcentajes (< 5, 5-25, 25-50, 50-75 y 75-100).

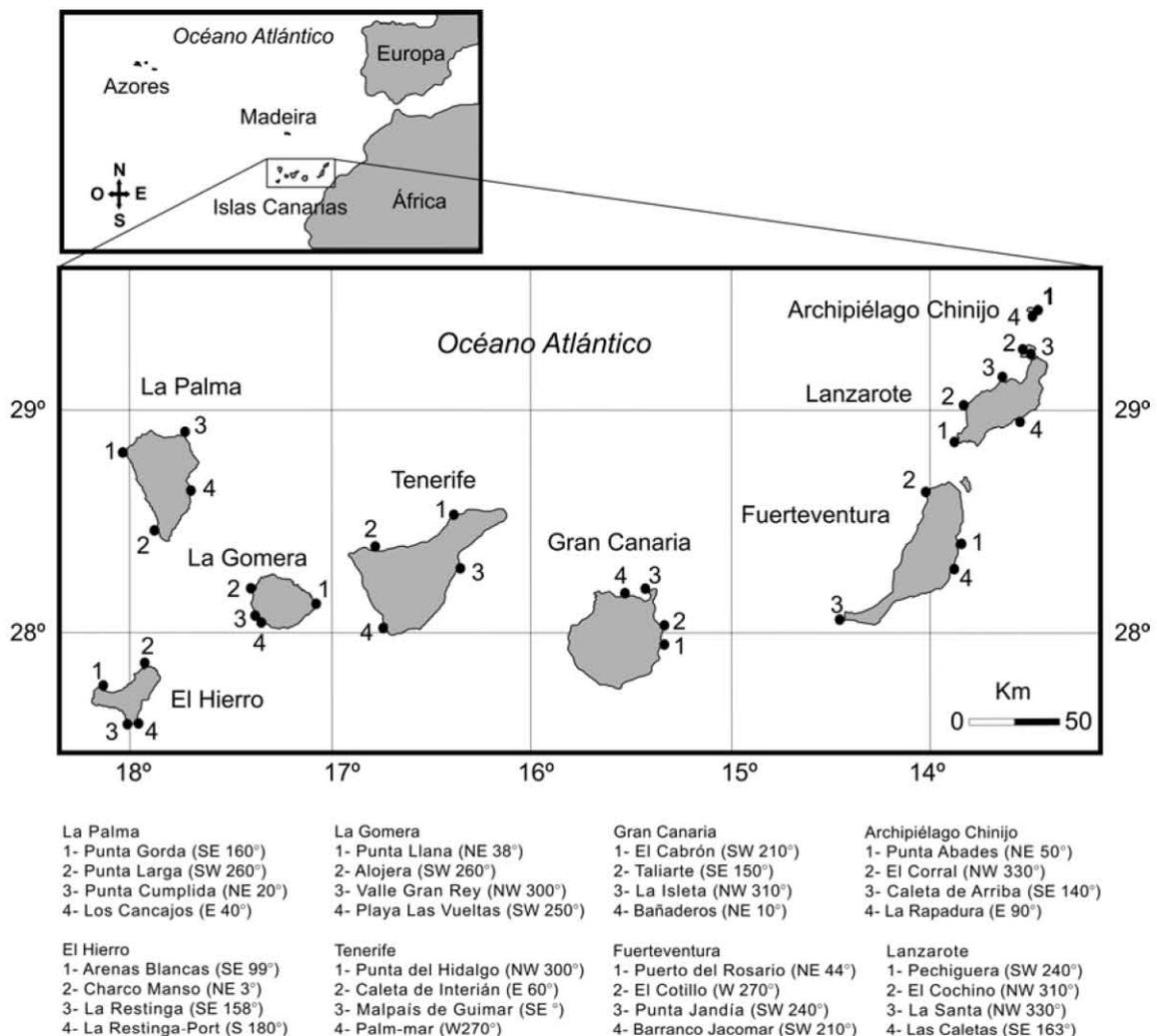


Figura 2. Mapa del Archipiélago Canario mostrando las localidades muestreadas y sus orientaciones.

2.2 Estructura de la comunidad y especies estudiadas

Los conjuntos de organismos en las costas rocosas canarias muestran, en general, un patrón bien definido siguiendo los esquemas de zonación clásicos (Stephenson y Stephenson, 1949; Lawson y Norton, 1971). Éstos estaban estructurados en tres niveles o zonas: zona alta, zona media y zona baja (Ramírez *et al.*, 2008). La zona alta está caracterizada por cianobacterias como *Calothrix crustacea*, *Brachytrichia quoyi* y, ocasionalmente, por líquenes tales como *Lichina confinis*. La zona media está dominada por el sacabocao *Chthamalus stellatus* mezclado con ejemplares dispersos de *C. crustacea* y céspedes esparcidos del alga roja *Gelidium pusillum*. La zona baja está dominada por conjuntos variables, incluyendo algas rojas coralináceas costrosas (p. ej. *Hydrolithon* spp.), densos céspedes de algas rojas coralináceas articuladas (p. ej. *Jania* spp., *Corallina* spp., *Haliptilon* spp., etc.) y algas rojas no coralináceas (p. ej. *Laurencia* spp., *Polysiphonia* spp. y *Ceramium* spp.) junto con céspedes de algas pardas erectas (p. ej. *Cystoseira* spp.).



Figura 3. Zonas intermareales: alta (negra a la izquierda), media (amarilla en el medio) y baja (marrón a la derecha).

En este estudio, se seleccionaron seis especies de moluscos gasterópodos incluyendo especies herbívoras (tróquidos y lapas) y una especie carnívora (un murícido o caracol depredador) (Fig. 4). Estos organismos han sido reconocidos como clave en la zona intermareal ya que juegan un papel importante estructurando comunidades (Silva *et al.*, 2003; Dunmore y Schiel, 2003). Los tróquidos fueron *Osilinus atrata* (Wood 1828), distribuido por todo el Archipiélago Canario, y *Osilinus sauciatus* (Koch 1845), restringido a algunas islas (Ramírez *et al.*, 2005). Las lapas, igualmente distribuidas por todo el Archipiélago, fueron: *Patella aspera* Röding, 1798; *Patella candei crenata* d'Orbigny, 1840; *Patella rustica* Linnaeus, 1758. La lapa *Patella candei* d'Orbigny, 1840 no fue incluida debido a su escasez (cerca de la extinción) y limitada distribución en el Archipiélago (Nuñez *et al.*, 2003). Por último, el murícido *Stramonita haemastoma* Linnaeus, 1766 también fue incluido en el análisis. Algunas de estas especies presentan una amplia distribución abarcando áreas del Atlántico y del Mediterráneo (*P. rustica*, *P. aspera* y *S. haemastoma*), mientras que las otras están limitadas a la región Macaronésica (*P. candei crenata*, *O. atrata* y *O. sauciatus*) (Hawkins *et al.*, 2000). Estas especies pueden ser consideradas organismos modelo debido a las siguientes características: (1) vivir sobre la superficie de las costas rocosas, (2) ser visibles y (3) tener reducida movilidad haciendo fácil su recuento y muestreo.

| | |
|---|---|
| |  |
| Reino | <i>Animal</i> _____ |
| División | <i>Mollusca</i> _____ |
| Clase | <i>Gastropoda</i> _____ |
| Orden | <i>Archaeogastropoda</i> _____ <i>Apogastropoda</i> |
| Familia | <i>Trochidae</i> _____ <i>Patellidae</i> _____ <i>Muricidae</i> |
| Género y especie | <i>Osilinus atrata</i> <i>Patella aspera</i> <i>Patella rustica</i> <i>Osilinus sauciatus</i> <i>Patella candei</i> <i>Stramonita haemastoma</i> |
| Subespecie | <i>Patella candei crenata</i> |
| Nombres comunes: Burgado hembra (<i>O. atrata</i>); Burgado macho (<i>O. sauciatus</i>); Lapa blanca (<i>P. aspera</i>); Lapa negra (<i>P. candei crenata</i>); Lapa de sol (<i>P. rustica</i>); Cañadilla, canailla, quemón (<i>S. haemastoma</i>) | |

Figura 4. Clasificación taxonómica de los moluscos estudiados.

2.3 Diseño y técnica del muestreo

Una manera útil de medir la importancia relativa de los procesos que operan a diferentes escalas espaciales sobre la estructura de las comunidades está basada en un método jerárquico (Kotliar y Wiens, 1990; Underwood y Chapman, 1996), donde los fenómenos de pequeña escala están anidados en unos de gran escala (Fraschetti *et al.*, 2005; Nakaoka *et al.*, 2006). El diseño del muestreo fue, por tanto, como sigue: en cada isla, separadas por 10s a 100s de Km, cuatro localidades de sustrato rocoso, separadas por 10s de Km, fueron escogidas aleatoriamente; además, en cada localidad, tres sitios, separados por 10s de m, fueron también aleatoriamente seleccionados; finalmente, en cada sitio, las densidades de los seis moluscos gasterópodos fueron estimadas utilizando unidades distribuidas aleatoriamente (separadas desde 10s de cm hasta 10 m) en cada zona intermareal (n = 10).

Los organismos fueron contados utilizando cuadrados metálicos de 50 x 50 cm (0.25 m²) (Creese y Kingsford, 1998; Fig. 5). Este método de muestreo fue satisfactoriamente utilizado en las costas rocosas canarias en estudios previos (Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005, 2009; Tuya *et al.*, 2006) y en muchas otras zonas costeras (p. ej. Takada, 1995, 1996; Rilov *et al.*, 2001; Boaventura *et al.*, 2003; Branch y Odendaal, 2003; Dunmore y Schiel, 2003; Silva *et al.*, 2003; Arrontes *et al.*, 2004). En cada cuadrado, todos los ejemplares de lapas, tróquidos y cañadillas fueron también medidos utilizando calibradores Vernier con una aproximación de 1 mm (Fig. 5).



Figura 5. Técnica de muestreo intermareal y detalle de la medición de la talla sobre una lapa.

2.4 Análisis estadístico

Para cada especie, los datos de abundancia fueron analizados usando análisis de la varianza (ANOVA) por medio del paquete de análisis GMAV5 para determinar la importancia de las diferencias entre las zonas intermareales a lo largo del conjunto de escalas horizontales. Los factores considerados fueron: (1) tiempo, como fijo y ortogonal (tres niveles correspondiendo a los tres tiempos de muestreo), (2) isla, como fijo y ortogonal (ocho niveles correspondiendo a las ocho islas), (3) zona, como fijo y ortogonal (tres niveles correspondiendo a las tres zonas intermareales; alta, media y

baja), (4) localidad, como aleatorio y anidado en la interacción “isla x zona” y (5) sitio, como aleatorio y anidado en la interacción “isla x zona x localidad” (Underwood, 1997; Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005, 2009; Tuya *et al.*, 2005). De este modo, el modelo de las fuentes de variabilidad responde a la siguiente fórmula:

$$X = \mu + \text{tiempo} + \text{isla} + \text{zona} + \text{localidad (isla x zona)} + \text{sitio (isla x zona x localidad)} + \text{tiempo x isla} + \text{tiempo x zona} + \text{tiempo x localidad (isla x zona)} + \text{tiempo x sitio (isla x zona x localidad)} + \text{isla x zona} + \text{tiempo x isla x zona} + \text{residual} \quad (1)$$

El test de Cochran fue usado para chequear la homogeneidad de las varianzas. Si fuera necesario, los datos se transformarían para evitar la contribución del error de Tipo I, aunque los análisis con un gran tamaño muestral y grupos a comparar del mismo tamaño son muy robustos. Así, el estadístico F no fue muy afectado por la heterogeneidad de varianza y fue suficiente escoger un nivel de significación (α) más pequeño y conservador (Underwood, 1997; Martínez *et al.*, 2001). Cuando el test F inicial fuera significativo para los factores principales tiempo, isla y zona, el test de Student-Newman-Keuls (SNK) fue usado para las comparaciones *a posteriori*. Además, para conocer la contribución (%) de cada escala espacial (isla, localidad, sitio y cuadrado) al total de la variabilidad en cada zona intermareal (Graham, 2001), los componentes de la varianza fueron calculados utilizando STATGRAPHICS Plus 5.0. Cuando el factor tiempo era significativo en el ANOVA inicial, los análisis de los componentes de la varianza fueron realizados para cada tiempo.

El estudio de la talla presentó dos objetivos para cada especie: (1) determinar diferencias en las tallas medias entre tiempos, islas y zonas y (2) definir la estructura de

talla de la población en el Archipiélago Canario, indicando en ambos casos que factores pueden producir cambios sobre la talla. Este estudio estuvo determinado por la abundancia de las diferentes especies; así, cuando ésta era baja, las comparaciones entre los grupos de interés no pudieron ser realizadas satisfactoriamente. Para evitar este sesgo, los datos de talla fueron agrupados y analizados entre islas o para el total del Archipiélago. Las tallas registradas fueron comparadas por medio de intervalos de confianza (IC) al 95 % ($\alpha = 0.05$) para obtener el primer objetivo (Martínez *et al.*, 2001), mientras que, para definir cual era la estructura de talla de la población, un diagrama de frecuencia fue obtenido para el total de los registrados en cada tiempo. Los rangos de talla fueron establecidos de manera estándar, los cuales fueron de 3 mm para los tróquidos y 5 mm para las lapas y las cañadillas (Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005, 2009).

3. RESULTADOS

3.1 Plataformas intermareales y complejidad del sustrato

Las plataformas intermareales de las islas orientales fueron más largas que aquellas en las islas occidentales (Fig. 6A). Así, las plataformas más largas fueron registradas en L (≈ 75 m de media), mientras que las más cortas (< 30 m) en P; este resultado probablemente refleja la diferencia de edad geológica entre las islas, aunque el AC, a pesar de su corta edad geológica, presentó plataformas con similares longitudes a L (Fig. 6A). En cambio, G, considerablemente más antigua que las otras islas occidentales, mostró plataformas más largas que aquellas en tales islas, especialmente en sus zonas inferiores (Fig. 6A). En general, cada zona intermareal fue también más larga en las islas orientales que en las occidentales (Fig. 6A). Aunque tales diferencias

fueron más obvias sobre las zonas alta y baja, las longitudes de la zona media fueron particularmente cortas en G, P y H (Fig. 6A).

Aunque la complejidad del sustrato fue variable de un cuadrado a otro, ésta varió dependiendo de cada zona intermareal (Fig. 6B). La zona baja y alta mostraron baja complejidad de hábitat (< 5 % de grietas y huecos) en el 70 % y 60 % de los cuadrados analizados, respectivamente. En la zona media, la frecuencia de cuadrados con esa complejidad se aproximó al 40 % mientras que, aproximadamente, otro 40 % presentó una cobertura de grietas y huecos oscilando entre el 5 y 25 % (Fig. 6B). Aunque los cuadrados con una complejidad media (25-50 %), alta (50-75 %) y muy alta (75-100 %) fueron escasos o inexistentes en la tres zonas intermareales, éstos fueron más frecuentes en la zona media (Fig. 6B).

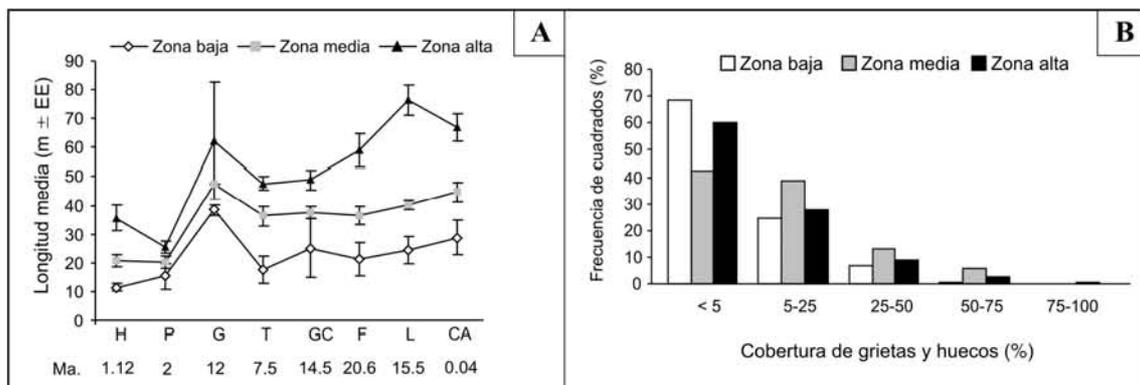


Figura 6. (A) Longitud media total de las plataformas y longitud media de cada zona intermareal (distancia entre líneas) para cada isla, estas son: El Hierro (H), La Palma (P), La Gomera (G), Gran Canaria (GC), Fuerteventura (F), Lanzarote (L), Archipiélago Chinijo (AC). La edad de las islas fue indicada en millones de años (Ma.); (B) Complejidad del sustrato, dado como cobertura de grietas y huecos, en cada zona intermareal.

3.2 Especies estudiadas

Los resultados obtenidos de los seis moluscos gasterópodos serán presentados separados, comenzando con los dos tróquidos, luego las tres especies de patélidos y finalmente la única especie de murícido.

3.2.1 *Osilinus atrata*

Osilinus atrata presentó un patrón de distribución muy variable a escalas pequeña e intermedia (sitios y localidades respectivamente), con patrones incluso inconsistentes de un tiempo a otro (Tabla 1). Este tróquido mostró diferencias en la abundancia entre las zonas intermareales, las cuales fueron, sin embargo, inconsistentes de un tiempo a otro (Tabla 1). En general, este fue más abundante en la zona media (80.06 % del total de los ejemplares registrados) en los tres tiempos de muestreo (Test SNK, $p < 0.01$) (Fig. 7). Además, su abundancia fue mayor en la zona alta que en la zona baja en T1 (Test SNK, $p < 0.01$) y T3 (Test SNK, $p < 0.04$), mientras que ninguna diferencia fue encontrada en T2, a pesar de que ningún ejemplar ocurrió en la zona baja (Fig. 7). Más aún, *O. atrata* presentó diferencias significativas entre tiempos (como factor principal) mostrando una abundancia más alta en T1 que en T2 y T3 (Test SNK, $p < 0.01$). La diferencia entre cuadrados (residual) fue la fuente más importante de variación en cada zona intermareal y tiempo (Tabla 2). En cada caso, este factor explicó más del 70 % de la varianza total (Tabla 2). En la zona media, el factor localidad también contribuyó aproximadamente el 27 % y el 19 % en T1 y T3 respectivamente, mientras que el factor sitio el 23 % en T2.

Osilinus atrata presentó un rango de talla que varió entre 2 y 29 mm y mostró una distribución unimodal en los tres tiempos de muestreo (Fig. 8). Las clases de talla

más frecuentes fueron: 10-12 mm (en T1 y T2) y 13-15 mm (en T3) (Fig. 8), con las siguientes tallas medias para todo el Archipiélago: 11.08 ± 0.07 (T1), 10.78 ± 0.09 (T2) y 12.80 ± 1.88 mm (T3) (media \pm E.E.). Todas las islas, excepto H, mostraron diferencias significativas sobre la talla media entre los tiempos de muestreo (Fig. 9). Aunque no se encontró ningún patrón regular, los ejemplares más grandes fueron registrados en T1 y T3 (Fig. 9). Durante todo el período experimental, la talla media más pequeña fue encontrada en la isla de T (Tabla 3). La talla media de este tróquido parece incrementarse desde la zona baja hasta la alta aunque únicamente fueron registradas diferencias significativas para T2 (Fig. 10).

Tabla 1. ANOVA sobre la abundancia de los moluscos estudiados. Los números en negrita indican significación.

| Fuente de variación | gl | Cm | F | p | Cm | F | p | |
|-----------------------|------|------------------------|-------|-----------------|--------|-------------------------------|-----------------|--|
| | | <i>Osilinus atrata</i> | | | | <i>Osilinus sauciatius</i> | | |
| T = Tiempo | 2 | 3302.14 | 9.30 | < 0.001 | 19.16 | 0.94 | > 0.3 | |
| I = Isla | 7 | 4203.43 | 1.75 | > 0.1 | 236.25 | 2.38 | < 0.04 | |
| Z = Zona | 2 | 49011.36 | 20.45 | < 0.0001 | 470.87 | 4.74 | < 0.02 | |
| L (I x Z) = Localidad | 72 | 2396.32 | 8.51 | < 0.0001 | 99.42 | 2.19 | < 0.0001 | |
| S (I x Z x L) = Sitio | 192 | 281.52 | 3.09 | < 0.0001 | 45.47 | 3.81 | < 0.0001 | |
| T x I | 14 | 540.30 | 1.52 | > 0.1 | 33.01 | 1.62 | > 0.08 | |
| T x Z | 4 | 1805.30 | 5.08 | < 0.001 | 8.40 | 0.41 | > 0.8 | |
| T x L (I x Z) | 144 | 355.17 | 1.88 | < 0.0001 | 20.43 | 1.65 | < 0.001 | |
| T x S (I x Z x L) | 384 | 188.79 | 2.07 | < 0.0001 | 12.36 | 1.04 | > 0.3 | |
| I x Z | 14 | 3002.36 | 1.25 | > 0.2 | 144.48 | 1.45 | > 0.1 | |
| T x I x Z | 28 | 366.64 | 1.03 | > 0.4 | 27.93 | 1.37 | > 0.1 | |
| Residual | 7776 | 91.00 | | | 11.93 | | | |
| Total | 8639 | | | | | | | |
| | | <i>Patella aspera</i> | | | | <i>Patella candei crenata</i> | | |
| T = Tiempo | 2 | 5.60 | 0.12 | > 0.8 | 14.24 | 0.93 | > 0.3 | |
| I = Isla | 7 | 312.53 | 1.48 | > 0.1 | 74.70 | 1.67 | > 0.1 | |
| Z = Zona | 2 | 957.70 | 4.53 | < 0.02 | 65.90 | 1.47 | > 0.2 | |
| L (I x Z) = Localidad | 72 | 211.33 | 6.52 | < 0.0001 | 44.77 | 6.31 | < 0.0001 | |
| S (I x Z x L) = Sitio | 192 | 32.43 | 3.41 | < 0.0001 | 7.09 | 3.07 | < 0.0001 | |
| T x I | 14 | 38.74 | 0.84 | > 0.6 | 7.32 | 0.48 | > 0.9 | |
| T x Z | 4 | 10.63 | 0.23 | > 0.9 | 20.79 | 1.35 | > 0.2 | |
| T x L (I x Z) | 144 | 46.38 | 1.00 | > 0.4 | 15.36 | 2.42 | < 0.0001 | |
| T x S (I x Z x L) | 384 | 46.48 | 4.88 | < 0.0001 | 6.35 | 2.75 | < 0.0001 | |
| I x Z | 14 | 203.73 | 0.96 | > 0.4 | 22.14 | 0.49 | > 0.9 | |
| T x I x Z | 28 | 60.92 | 1.31 | > 0.1 | 21.01 | 1.37 | > 0.1 | |
| Residual | 7776 | 9.52 | | | 2.31 | | | |
| Total | 8639 | | | | | | | |
| | | <i>Patella rustica</i> | | | | <i>Stramonita haemastoma</i> | | |
| T = Tiempo | 2 | 2.70 | 0.05 | > 0.9 | 14.49 | 1.39 | > 0.2 | |
| I = Isla | 7 | 575.65 | 0.91 | > 0.5 | 55.55 | 1.54 | > 0.1 | |
| Z = Zona | 2 | 2776 | 4.37 | < 0.02 | 540.69 | 15.01 | < 0.0001 | |
| L (I x Z) = Localidad | 72 | 635.73 | 22.79 | < 0.0001 | 36.03 | 6.36 | < 0.0001 | |
| S (I x Z x L) = Sitio | 192 | 27.89 | 1.50 | < 0.0001 | 5.66 | 2.18 | < 0.0001 | |
| T x I | 14 | 80.95 | 1.62 | > 0.08 | 10.81 | 1.04 | > 0.4 | |
| T x Z | 4 | 1.14 | 0.02 | > 0.9 | 4.09 | 0.39 | > 0.8 | |
| T x L (I x Z) | 144 | 50.07 | 2.14 | < 0.0001 | 10.43 | 2.23 | < 0.0001 | |
| T x S (I x Z x L) | 384 | 23.41 | 1.26 | < 0.001 | 4.67 | 1.79 | < 0.0001 | |
| I x Z | 14 | 458.84 | 0.72 | > 0.7 | 41.19 | 1.14 | > 0.3 | |
| T x I x Z | 28 | 65.87 | 1.32 | > 0.1 | 4.62 | 0.44 | > 0.9 | |
| Residual | 7776 | 18.59 | | | 2.60 | | | |
| Total | 8639 | | | | | | | |

gl: grados de libertad; Cm: cuadrados medios; F: F de Fisher; p: nivel de significación

3.2.2 *Osilinus sauciatus*

Osilinus sauciatus mostró un patrón de distribución variable para todas las escalas espaciales tanto en el eje vertical como horizontal (Tabla 1). Esta variabilidad fue únicamente inconsistente de un tiempo de muestreo a otro a escala intermedia (localidad; Tabla 1). Este tróquido presentó una distribución restringida a las islas orientales (AC, L, F, GC); su abundancia fue significativamente más alta en el AC que en GC (Test SNK, $p < 0.05$; Fig. 7). Las diferencias entre las zonas intermareales fueron constantes para las islas y tiempos (Tabla 1). *O. sauciatus* fue mucho más abundante en la zona alta (83 % del total de los ejemplares registrados) en relación a las zonas media (27 % del total) y baja (en la cual no fue encontrado ningún ejemplar durante el estudio) (Test SNK, $p < 0.05$; Fig. 7). La fuente más importante de variación fue la diferencia entre los cuadrados (residual) (Tabla 4). Este término explicó el 83 % (zona alta) y el 99 % (zona media) de la varianza total.

Osilinus sauciatus mostró un rango de talla que varió entre 3 y 32 mm y presentó una distribución unimodal en cada tiempo (Fig. 8). La clase de talla 13-15 mm fue la más frecuente en T1 y T2, mientras que la clase 16-18 mm en T3. Así, las tallas medias (\pm E.E.) para todo el estudio fueron: 12.32 ± 0.24 (T1), 12.78 ± 0.28 (T2) y 14.07 ± 0.38 mm (T3). Las diferencias de talla media de un tiempo de muestreo a otro en cada isla fueron únicamente detectadas en L y F (Fig. 9). Del mismo modo, se encontraron pocas diferencias significativas entre islas en los tres tiempos (Tabla 3). Con respecto a las zonas intermareales, este tróquido presentó diferencias significativas en T1 y T3 mostrando las tallas medias más grandes en las zonas media y alta, respectivamente (Fig. 10).

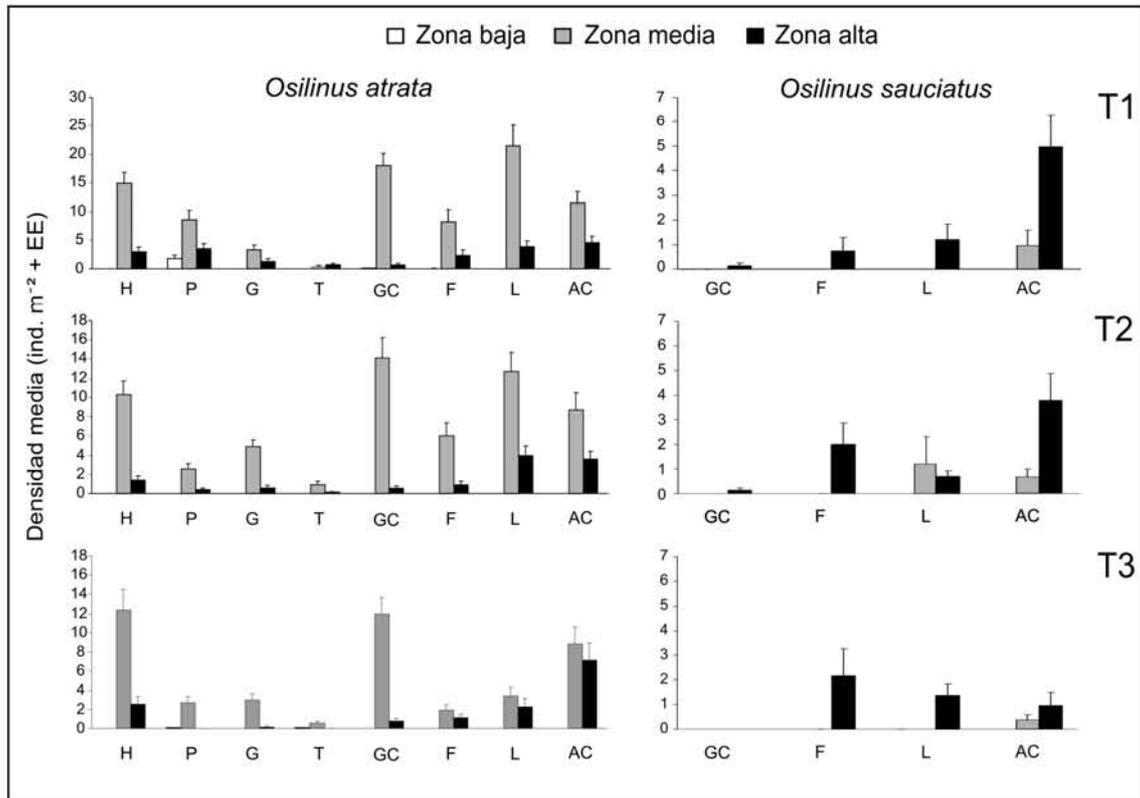


Figura 7. Densidad media de *Osilinus* spp. en cada zona intermareal por isla y tiempo de muestreo (abreviaturas como en la figura 6).

Tabla 2. Resultados de los análisis de los componentes de la varianza para *Osilinus atrata* en cada tiempo de muestreo.

| Fuente | gl | Sc | Zona baja | | | Zona media | | | | Zona alta | | | |
|-----------|-----|--------|-----------|-------|----------------|------------|-------|-------|----------------|-----------|------|------|----------------|
| | | | Cm | Cv | ω ² | Sc | Cm | Cv | ω ² | Sc | Cm | Cv | ω ² |
| T1 | | | | | | | | | | | | | |
| Isla | 7 | 52.8 | 7.54 | 0.03 | 1.51 | 557.8 | 79.68 | 0.006 | 0.07 | 47.6 | 6.8 | 0 | 0 |
| Localidad | 24 | 99.3 | 4.14 | 0.007 | 0.39 | 1893.9 | 78.91 | 2.41 | 26.9 | 188.7 | 7.86 | 0.15 | 7.83 |
| Sitio | 64 | 250.7 | 3.92 | 0.23 | 12.3 | 354.1 | 5.53 | 0 | 0 | 210.1 | 3.28 | 0.16 | 8.47 |
| Residual | 864 | 1390.4 | 1.61 | 1.61 | 85.8 | 5657.6 | 6.55 | 6.55 | 73.03 | 1409.6 | 1.63 | 1.63 | 83.7 |
| Total | 959 | 1793.2 | | | | 8463.4 | | | | 1856 | | | |
| T2 | | | | | | | | | | | | | |
| Isla | 7 | 23.72 | 3.39 | 0.006 | 0.34 | 274.9 | 39.28 | 0.11 | 1.62 | 1.85 | 0.26 | 0 | 0 |
| Localidad | 24 | 62.27 | 2.59 | 0.01 | 0.76 | 625 | 26.04 | 0.18 | 2.64 | 6.8 | 0.28 | 0 | 0 |
| Sitio | 64 | 137.6 | 2.15 | 0.02 | 1.23 | 1320.5 | 20.63 | 1.57 | 22.9 | 18.1 | 0.28 | 0.01 | 6.06 |
| Residual | 864 | 1649.6 | 1.91 | 1.91 | 97.67 | 4294.4 | 4.97 | 4.97 | 72.8 | 148.8 | 0.17 | 0.17 | 93.94 |
| Total | 959 | 1873.2 | | | | 6514.9 | | | | 175.6 | | | |
| T3 | | | | | | | | | | | | | |
| Isla | 7 | 12.8 | 1.83 | 0 | 0 | 270.6 | 38.6 | 0 | 0 | 4.47 | 0.64 | 0 | 0 |
| Localidad | 24 | 76.4 | 3.18 | 0.06 | 5.9 | 1123.9 | 46.83 | 1.31 | 18.7 | 20 | 0.83 | 0.02 | 7.29 |
| Sitio | 64 | 92.8 | 1.45 | 0.06 | 5.9 | 484.3 | 7.57 | 0.21 | 2.98 | 13.87 | 0.22 | 0 | 0 |
| Residual | 864 | 747.2 | 0.86 | 0.86 | 88.15 | 4734.4 | 5.48 | 5.48 | 78.3 | 214.4 | 0.25 | 0.25 | 92.71 |
| Total | 959 | 929.2 | | | | 6613.2 | | | | 252.7 | | | |

gl: grados de libertad; Sc: suma de cuadrados; Cm: cuadrados medios; Cv: componentes de la varianza; ω²: magnitud del efecto (presentado como porcentaje).

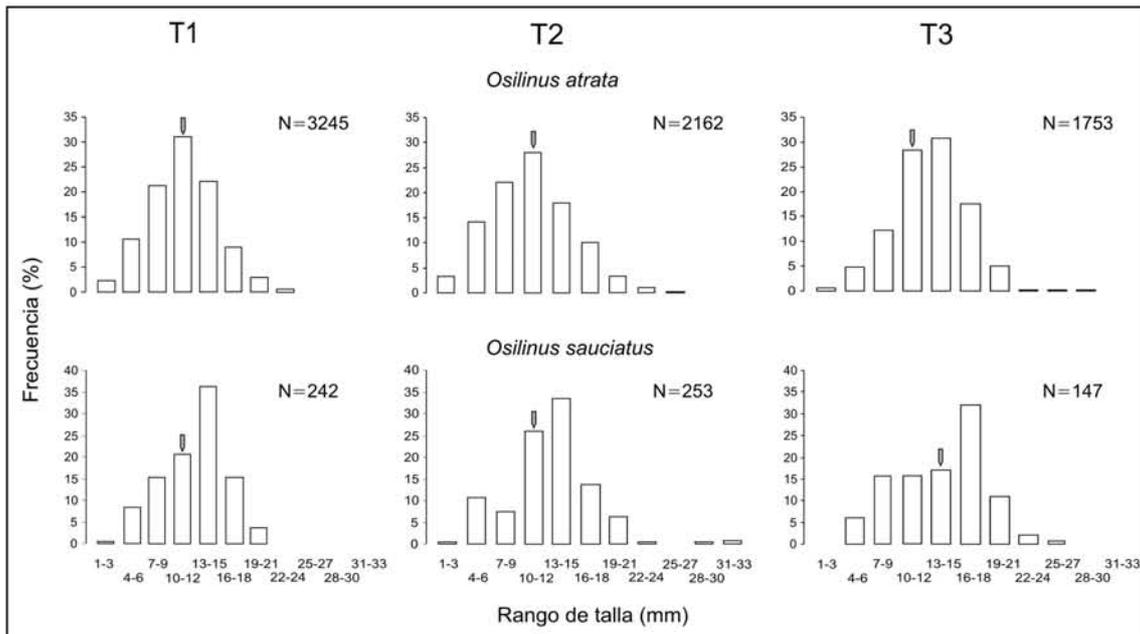


Figura 8. Diagrama de frecuencia de talla de *Osilinus* spp. en cada tiempo de muestreo. Las marcas indican donde está situada la talla media.

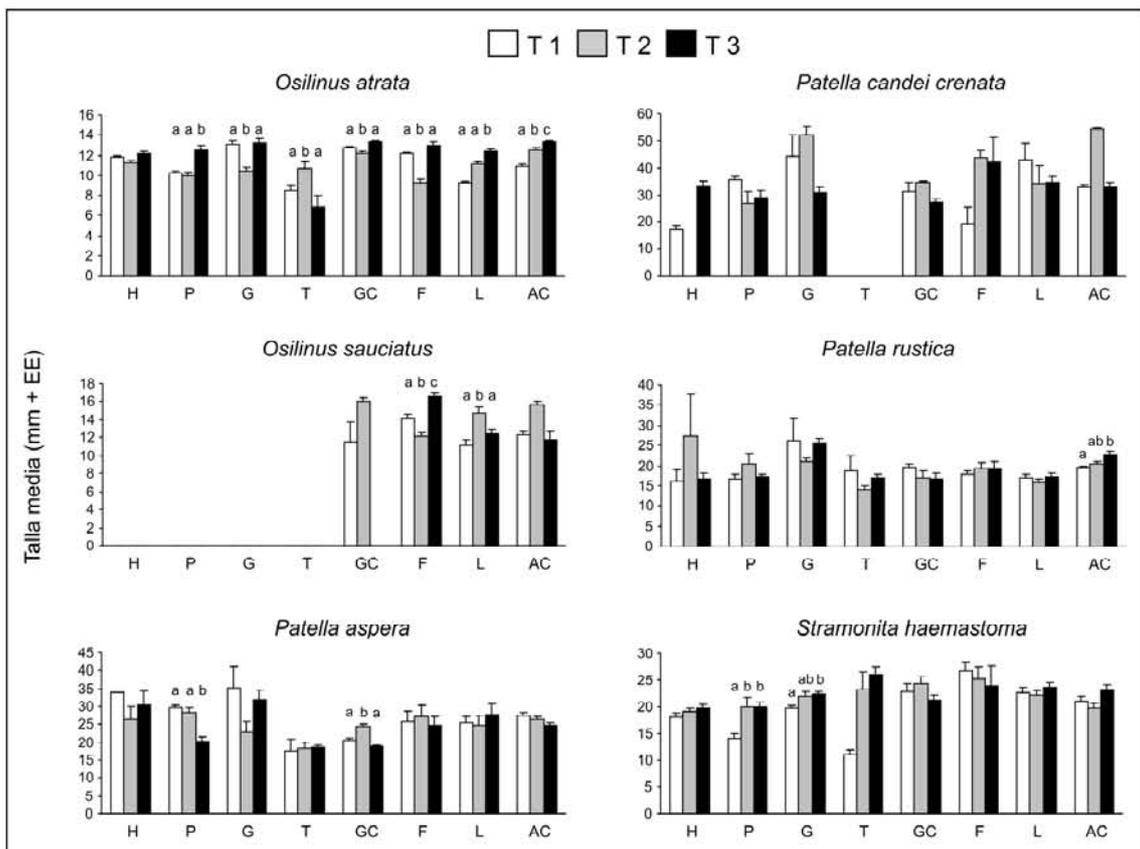


Figura 9. Talla media de los moluscos estudiados en cada isla (abreviaturas como en la figura 6) y tiempo de muestreo. Las diferencias significativas (IC 95 %) entre tiempos fueron indicados con distintas letras, mientras que la misma o ninguna letra significa sin diferencia.

Tabla 3. Comparación de la talla media entre pares de islas por medio de intervalos de confianza (95 %) (abreviaturas como en la figura 6). Las islas localizadas en la columna izquierda pueden mostrar una talla mayor (>), menor (<) o similar (≈) que aquellas en la fila superior. * La ausencia de ejemplares en alguna de las islas no permitió ejecutar comparaciones. *Osilinus sauciatus* sólo existió en las islas orientales.

| | T1 | | | | | | | | T2 | | | | | | | | T3 | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|----|---|---|----|---|---|---|---|----|---|---|----|---|---|---|---|----|---|---|----|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | AC | L | F | GC | T | G | P | H | AC | L | F | GC | T | G | P | H | AC | L | F | GC | T | G | P | H | | | | | |
| <i>Osilinus atrata</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AC | - | > | < | < | > | < | ≈ | ≈ | - | > | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | - | > | ≈ | ≈ | > | ≈ | ≈ | ≈ | > | | | |
| L | | - | < | < | ≈ | < | < | < | | - | ≈ | < | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | - | ≈ | < | > | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | |
| F | | | - | ≈ | > | < | > | ≈ | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | - | ≈ | > | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | |
| GC | | | | - | > | ≈ | > | > | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | > | ≈ | | | | - | > | ≈ | ≈ | > | ≈ | | | |
| T | | | | | - | < | < | < | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | - | < | < | < | < | | | |
| G | | | | | | - | > | > | | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | |
| P | | | | | | | - | < | | | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | | | - | ≈ | ≈ | | |
| H | | | | | | | | - | | | | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | | | | - | ≈ | ≈ |
| <i>Osilinus sauciatus</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AC | - | ≈ | < | ≈ | | | | | - | < | ≈ | ≈ | | | | | | - | ≈ | < | * | | | | | | | | |
| L | | - | < | ≈ | | | | | | - | > | ≈ | | | | | | | - | < | * | | | | | | | | |
| F | | | - | ≈ | | | | | | | - | ≈ | | | | | | | | - | * | | | | | | | | |
| GC | | | | - | | | | | | | | - | | | | | | | | | - | | | | | | | | |
| <i>Patella aspera</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AC | - | ≈ | ≈ | > | > | ≈ | ≈ | * | - | ≈ | ≈ | ≈ | > | ≈ | ≈ | ≈ | - | ≈ | ≈ | > | > | < | > | ≈ | ≈ | | | | |
| L | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | * | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | - | ≈ | > | > | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | | |
| F | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | * | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | | |
| GC | | | | - | ≈ | ≈ | < | * | | | | - | > | ≈ | ≈ | ≈ | | | | - | ≈ | < | ≈ | < | < | | | | |
| T | | | | | - | ≈ | < | * | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | - | < | ≈ | ≈ | ≈ | | | |
| G | | | | | | - | ≈ | * | | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | | - | > | ≈ | ≈ | | | |
| P | | | | | | | - | * | | | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | | | - | ≈ | ≈ | | |
| H | | | | | | | | - | | | | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | | | | - | ≈ | ≈ |
| <i>Patella candei crenata</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AC | - | ≈ | ≈ | ≈ | * | ≈ | ≈ | > | - | ≈ | ≈ | ≈ | * | ≈ | ≈ | * | - | ≈ | ≈ | ≈ | * | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | | |
| L | | - | ≈ | ≈ | * | ≈ | ≈ | > | | - | ≈ | ≈ | * | ≈ | ≈ | * | | - | ≈ | ≈ | * | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | | |
| F | | | - | ≈ | * | ≈ | ≈ | ≈ | | | - | ≈ | * | ≈ | ≈ | * | | | - | ≈ | * | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | | |
| GC | | | | - | * | ≈ | ≈ | ≈ | | | | - | * | ≈ | ≈ | * | | | | - | * | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | | |
| T | | | | | - | * | * | * | | | | | - | * | * | * | * | | | | | - | * | * | * | * | | | |
| G | | | | | | - | ≈ | ≈ | | | | | | - | ≈ | * | | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | |
| P | | | | | | | - | > | | | | | | | - | * | | | | | | | - | ≈ | ≈ | | | | |
| H | | | | | | | | - | | | | | | | | - | * | | | | | | | | - | ≈ | ≈ | | |
| <i>Patella rustica</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AC | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | - | > | ≈ | ≈ | > | ≈ | ≈ | ≈ | - | > | ≈ | > | > | ≈ | ≈ | > | ≈ | | | | |
| L | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | - | ≈ | ≈ | ≈ | < | ≈ | ≈ | | - | ≈ | ≈ | ≈ | < | ≈ | ≈ | ≈ | | | | |
| F | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | - | ≈ | > | ≈ | ≈ | ≈ | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | | |
| GC | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | | - | ≈ | < | ≈ | ≈ | ≈ | | | | |
| T | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | - | < | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | - | < | ≈ | ≈ | ≈ | | | |
| G | | | | | | - | ≈ | ≈ | | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | | - | > | ≈ | ≈ | | | |
| P | | | | | | | - | ≈ | | | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | | | - | ≈ | ≈ | | |
| H | | | | | | | | - | | | | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | | | | - | ≈ | ≈ |
| <i>Stramonita haemastoma</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AC | - | ≈ | < | ≈ | ≈ | ≈ | > | ≈ | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | > | | | | |
| L | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | > | > | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | > | > | > | | | | |
| F | | | - | ≈ | ≈ | > | > | > | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | | |
| GC | | | | - | ≈ | ≈ | > | ≈ | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | > | | | | - | < | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | | |
| T | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | - | ≈ | > | > | > | | | |
| G | | | | | | - | > | ≈ | | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | | - | ≈ | > | > | | | |
| P | | | | | | | - | < | | | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | | | - | ≈ | ≈ | | |
| H | | | | | | | | - | | | | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | | | | - | ≈ | ≈ |

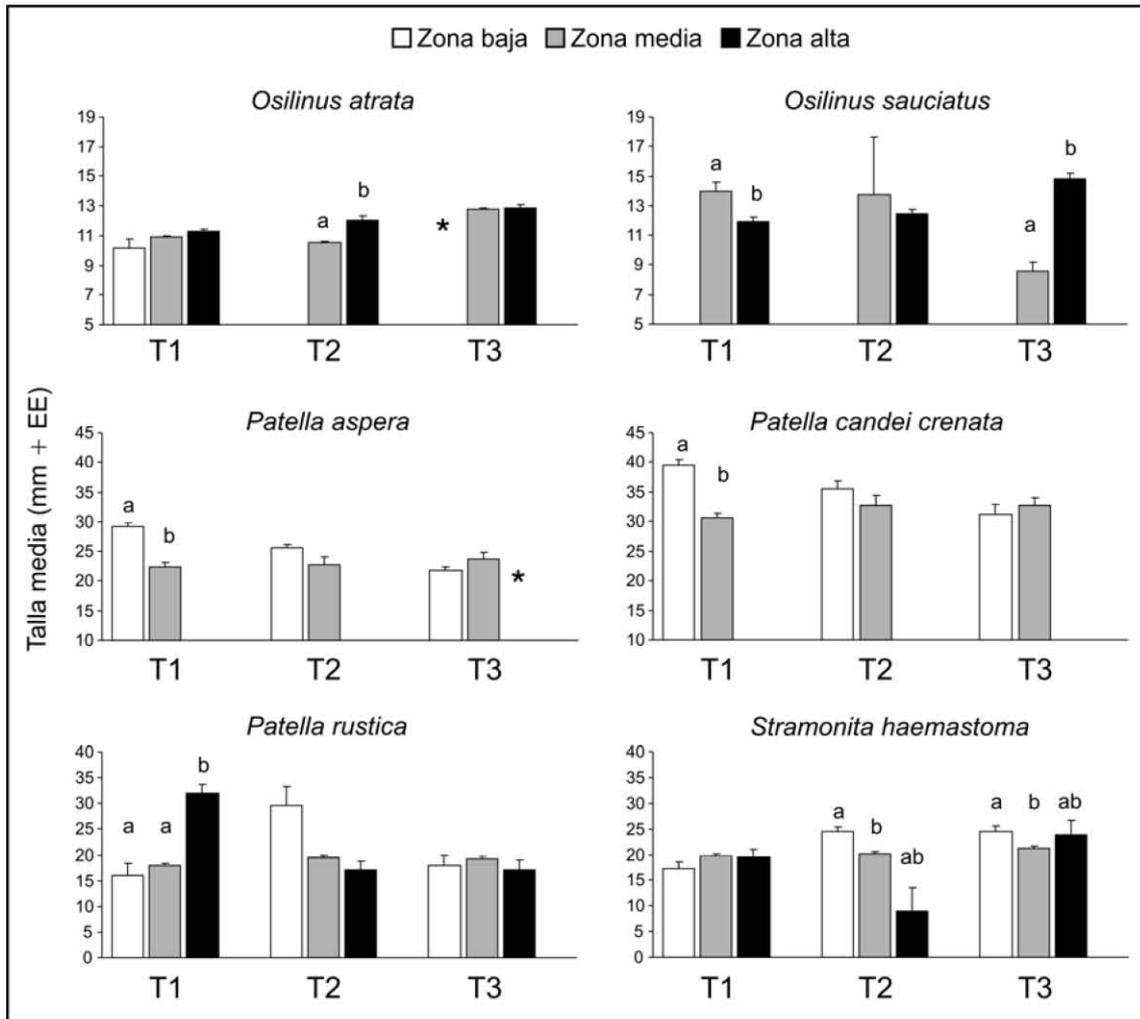


Figura 10. Talla media en cada zona intermareal para el total de ejemplares registrados por tiempo de muestreo. Las diferencias significativas (IC 95 %) entre las zonas de muestreo fueron indicadas con distintas letras, mientras que la misma o ninguna letra significan sin diferencia. * Solamente un ejemplar.

Tabla 4. Resultados de los análisis de los componentes de la varianza para los moluscos gasterópodos estudiados (excepto *Osilinus atrata*, ver tabla 2).

| Fuente | gl | Zona baja | | | | Zona media | | | | Zona alta | | | |
|----------------------|------|-----------|--------|--------|------------|------------|---------|-------|------------|-----------|--------|-------|------------|
| | | Sc | Cm | Cv | ω^2 | Sc | Cm | Cv | ω^2 | Sc | Cm | Cv | ω^2 |
| <i>O. sauciatus</i> | | | | | | | | | | | | | |
| Isla | 7 | – | – | – | – | 164.3 | 23.47 | 0.03 | 0.34 | 3512.3 | 501.76 | 0.60 | 1.81 |
| Localidad | 24 | – | – | – | – | 298.1 | 12.42 | 0.03 | 0.39 | 6860.8 | 285.87 | 1.76 | 5.31 |
| Sitio | 64 | – | – | – | – | 598.9 | 9.22 | 0.004 | 0.05 | 8141.5 | 127.21 | 3.32 | 10.02 |
| Residual | 2784 | – | – | – | – | 25281.6 | 9.08 | 9.08 | 99.23 | 76523.2 | 27.48 | 27.48 | 82.86 |
| Total | 2879 | – | | | | 26333.9 | | | | 95037.9 | | | |
| <i>P. aspera</i> | | | | | | | | | | | | | |
| Isla | 7 | 4564.9 | 652.12 | 0.31 | 0.91 | 474.5 | 67.78 | 0.0 | 0.0 | 0.6 | 0.09 | 0.0 | 0.0 |
| Localidad | 24 | 12981.4 | 540.89 | 5.07 | 14.87 | 2232.7 | 93.02 | 0.89 | 8.58 | 2.3 | 0.09 | 0.0 | 0.0 |
| Sitio | 64 | 5408.4 | 84.50 | 1.92 | 5.64 | 813.5 | 12.71 | 0.11 | 1.06 | 6.04 | 0.09 | 0.002 | 4.93 |
| Residual | 2784 | 74594.1 | 26.79 | 26.79 | 78.58 | 26163.2 | 9.39 | 9.39 | 90.36 | 102.9 | 0.04 | 0.04 | 95.07 |
| Total | 2879 | 97548.8 | | | | 29683.9 | | | | 111.9 | | | |
| <i>P. c. crenata</i> | | | | | | | | | | | | | |
| Isla | 7 | 286.4 | 40.95 | 0.0 | 0.0 | 546.3 | 78.04 | 0.0 | 0.0 | – | – | – | – |
| Localidad | 24 | 1050.6 | 43.77 | 0.33 | 11.02 | 2173.6 | 90.56 | 0.92 | 13.03 | – | – | – | – |
| Sitio | 64 | 880.4 | 13.75 | 0.38 | 12.61 | 481.4 | 7.52 | 0.05 | 0.66 | – | – | – | – |
| Residual | 2784 | 6432 | 2.31 | 2.31 | 76.37 | 17010.7 | 6.11 | 6.11 | 86.30 | – | – | – | – |
| Total | 2879 | 8649.6 | | | | 20211.9 | | | | – | | | |
| <i>P. rustica</i> | | | | | | | | | | | | | |
| Isla | 7 | 2.93 | 0.42 | 0.0003 | 0.10 | 10382.8 | 1483.26 | 0.0 | 0.0 | 67.6 | 9.65 | 0.0 | 0.0 |
| Localidad | 24 | 7.6 | 0.32 | 0.0 | 0.0 | 45514.4 | 1896.43 | 2.02 | 26.11 | 250.7 | 10.44 | 0.05 | 2.05 |
| Sitio | 64 | 20.62 | 0.32 | 0.002 | 0.82 | 4933.7 | 77.08 | 0.68 | 0.89 | 401.4 | 6.27 | 0.14 | 6.19 |
| Residual | 2784 | 718.4 | 0.26 | 0.26 | 99.08 | 157329 | 56.51 | 56.51 | 73 | 5775.5 | 2.07 | 2.07 | 91.76 |
| Total | 2879 | 749.5 | | | | 218160 | | | | 6495.2 | | | |
| <i>S. haemastoma</i> | | | | | | | | | | | | | |
| Isla | 7 | 31.4 | 4.48 | 0.001 | 0.09 | 910.8 | 130.11 | 0.08 | 1.10 | 23.4 | 3.35 | 0.0 | 0.0 |
| Localidad | 24 | 94.7 | 3.95 | 0.01 | 0.78 | 2402.9 | 100.12 | 0.97 | 12.87 | 96.7 | 4.03 | 0.03 | 3.44 |
| Sitio | 64 | 181 | 2.83 | 0.04 | 2.69 | 807.5 | 12.61 | 0.21 | 2.79 | 99.5 | 1.55 | 0.03 | 3.39 |
| Residual | 2784 | 4289.6 | 1.54 | 1.54 | 96.44 | 17508.8 | 6.29 | 6.29 | 83.24 | 2070.4 | 0.74 | 0.74 | 93.17 |
| Total | 2879 | 4596.6 | | | | 21629.9 | | | | 2290.1 | | | |

gl: grados de libertad; Sc: suma de cuadrados; Cm: cuadrados medios; Cv: componentes de la varianza; ω^2 : magnitud de los efectos (presentado como un porcentaje); –: sin datos.

3.2.3 *Patella aspera*

Patella aspera presentó un patrón de distribución espacial muy variable a escalas pequeña e intermedia (sitios y localidades respectivamente). Este patrón fue, además, inconsistente de un tiempo de muestreo a otro a pequeña escala pero constante a escala intermedia (Tabla 1). Esta lapa mostró una distribución espacial variable a lo largo del eje vertical, la cual fue, sin embargo, constante de una a otra isla y tiempo (Tabla 1). Ésta fue más abundante en la zona baja (76.13 % del total de los ejemplares registrados) que sobre las zonas media (23.76 %) y alta (0.10 %) (Test SNK, $p < 0.05$; Fig. 11). La diferencia entre cuadrados (residual) fue la fuente más importante de variación, explicando para cada zona más del 75 % del total de la varianza (Tabla 4). En la zona baja, las diferencias entre localidades también contribuyeron hasta un 15 % del total de la varianza.

Patella aspera mostró un rango de talla que osciló entre 4 y 68 mm. Su estructura de talla presentó una distribución unimodal en T1 y T3, con las clases de talla 31-35 mm y 16-20 mm como las más frecuentes (Fig. 12). En T2, sin embargo, existieron clases de talla (16-20 mm y 21-25 mm) con igual frecuencia o, como en T1, un conjunto de clases con similares frecuencias donde se acumularon la mayoría de los ejemplares (Fig. 12). Así, esta lapa mostró para todo el Archipiélago las siguientes tallas medias (\pm EE): 26.90 ± 0.47 (T1), 25.21 ± 0.52 (T2) y 22.19 ± 0.44 mm (T3). Las diferencias de talla media entre tiempos en cada isla fueron únicamente significativas en GC y P (Fig. 9). Igualmente se encontraron pocas diferencias significativas de talla media entre islas (Tabla 3). Esta lapa mostró mayor talla en la zona baja que en la zona media en T1 y T2 y lo contrario en T3, pero esto sólo fue significativo para el primer tiempo (Fig. 10).

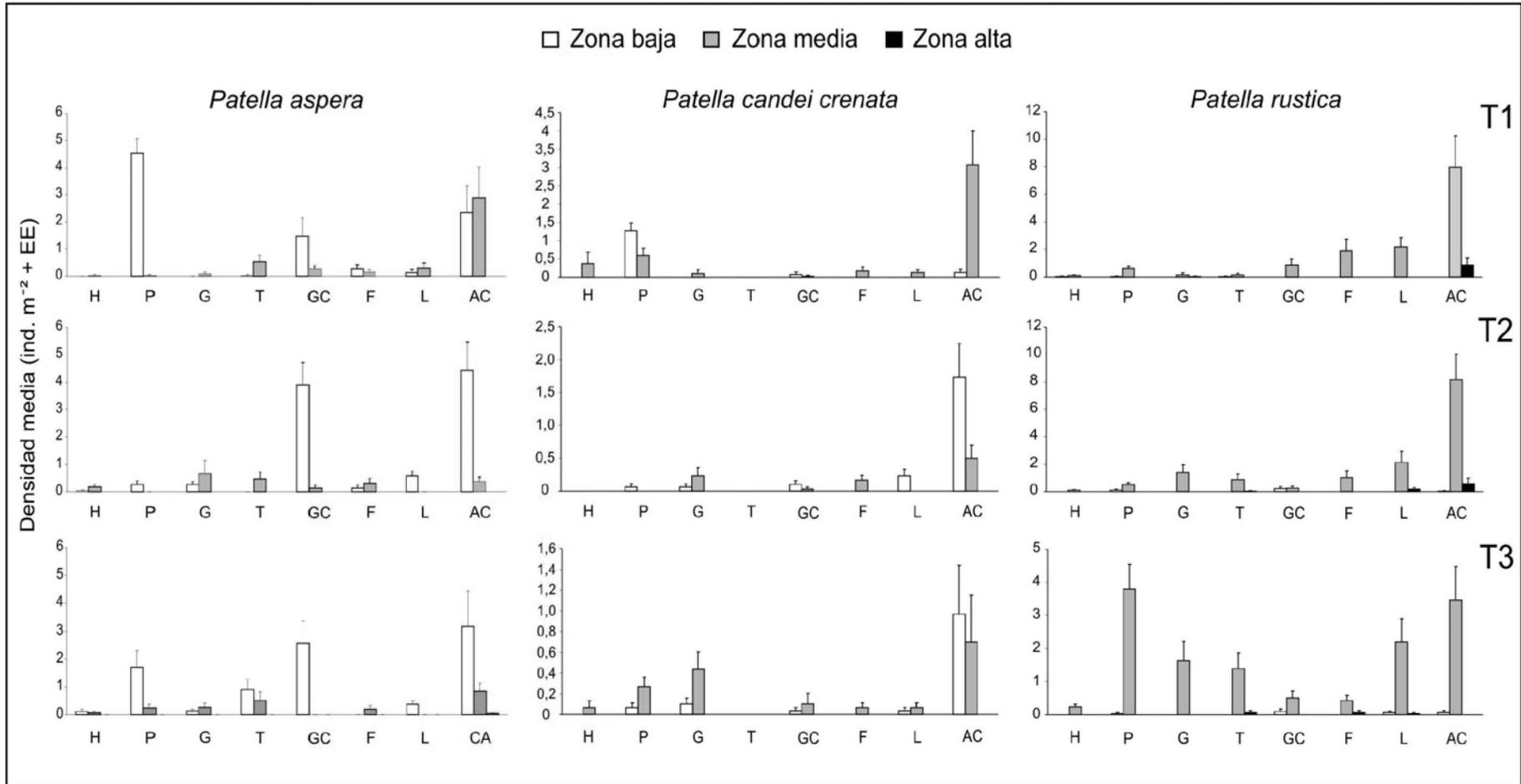


Figura 11. Densidad media de *Patella* spp. en cada zona intermareal por isla y tiempo de muestreo (abreviaturas como en la figura 6).

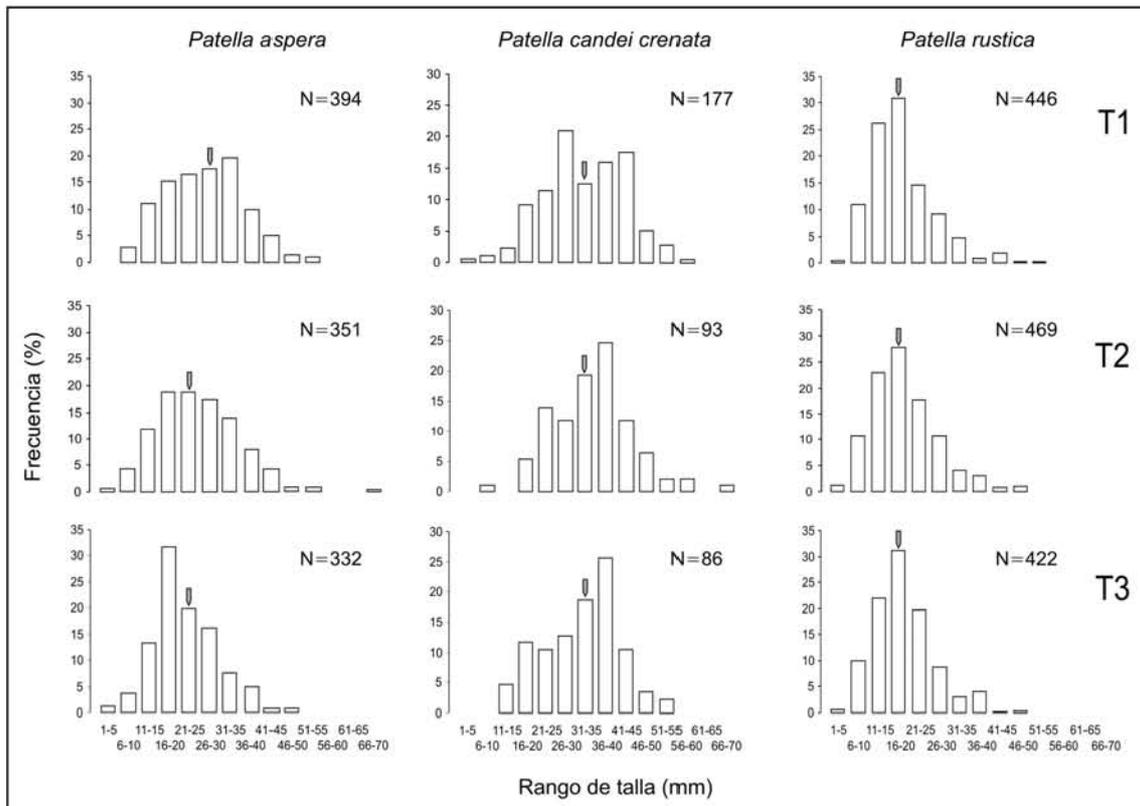


Figura 12. Diagrama de frecuencia de talla de *Patella* spp. en cada tiempo de muestreo. Las marcas indican donde está situada la talla media.

3.2.4 *Patella candei crenata*

Patella candei crenata presentó un patrón de distribución espacial muy variable a escalas pequeña e intermedia (sitios y localidades respectivamente). Este patrón de distribución fue inconsistente de un tiempo de muestreo a otro (Tabla 1). Por el contrario, esta lapa no presentó evidencias de diferencias significativas para las zonas intermareales (Tabla 1). Ésta fue únicamente encontrada en la zonas baja (40.66 % del total de los ejemplares registrados) y media (59.33 %) (Fig. 11). La diferencia entre cuadrados (residual) fue la fuente más importante de variación, explicando más del 75 % del total de la variabilidad para las zonas baja y media (Tabla 4). En la zona baja, los factores localidad y sitio también contribuyeron un 11 % y un 13 % respectivamente. Además, en la zona media el factor localidad explicó un 13 %.

Patella candei crenata presentó un rango de talla que varió entre 4 y 70 mm. Aunque para los tres tiempos mostró una clase de talla con mayor frecuencia (26-30 mm en T1; 36-40 mm en T2 y T3), esta parece presentar, especialmente en T1, una segunda moda (Fig. 12). Esta especie presentó para todo el estudio las siguientes tallas medias: 32.75 ± 0.77 mm (T1), 34.62 ± 1.04 (T2) y 32.05 ± 1.03 mm (T3) (media \pm EE). Esta lapa no presentó diferencias significativas sobre la talla media de un tiempo de muestreo a otro en ninguna isla (Fig. 9). Del mismo modo, no se encontró ninguna diferencia entre islas en T2 y T3 (Tabla 3). Las únicas diferencias significativas encontradas en T1 fueron que el AC, L y P presentaron tallas medias más altas que H (Tabla 3). La talla media de *P. candei crenata* fue mayor en la zona baja que en la zona media en T1 y T2 aunque ésta fue únicamente significativa en la primera (Fig. 10).

3.2.5 *Patella rustica*

Patella rustica mostró un patrón de distribución espacial muy variable a escalas pequeña e intermedia (sitios y localidades respectivamente) (Tabla 1). Este patrón fue en ambos casos inconsistente de un tiempo de muestreo a otro (Tabla 1). La abundancia de esta lapa también varió entre zonas intermareales pero dicha variabilidad fue constante de una isla a otra y tiempos de muestreo (Tabla 1). *P. rustica* fue mayoritariamente abundante en la zona media (94.31 % del total de los ejemplares registrados) (Test SNK, $p < 0.05$; Fig. 8). La principal fuente de variación fue la diferencia entre cuadrados (residual), explicando más del 90 % en las zonas baja y alta, mientras que el 73 % en la zona media. Similarmente, el factor localidad contribuyó hasta un 26 % de la varianza total en la zona media (Tabla 3).

Patella rustica mostró un rango de talla que osciló entre 3 y 53 mm. Su estructura de talla presentó una distribución unimodal con la clase de talla 16-20 mm como la más frecuente en los tres tiempos (Fig. 12). Así, esta lapa mostró para el total del Archipiélago las siguientes tallas medias (\pm EE): 18.84 ± 0.36 (T1), 19.32 ± 0.38 (T2) y 19.18 ± 0.36 mm (T3). Las únicas diferencias significativas sobre la talla media de un tiempo de muestreo a otro fueron en el AC (Fig. 10). No se encontró ninguna disimilitud sobre la talla media entre islas en T1, mientras que, se encontraron muy pocas diferencias significativas en T2 y T3 (Tabla 3). *P. rustica* mostró una talla media significativamente mayor en la zona alta que en la zona media y baja en T1 (Fig. 10); sin embargo, ésta no presentó diferencias significativas en T2 y T3.

3.2.6 *Stramonita haemastoma*

Stramonita haemastoma mostró un patrón de distribución variable a escalas pequeña e intermedia (sitios y localidades respectivamente), con patrones incluso inconsistentes de un tiempo de muestreo a otro (Tabla 1). Este murícido presentó abundancias diferentes en cada zona intermareal, el cual fue un patrón constante a lo largo de las islas y tiempos (Tabla 1). Éste fue más abundante en la zona media (76.92 % del total de ejemplares registrados) que en la zonas baja (17.78 %) y alta (5.28 %) (Test SNK, $p < 0.01$; Fig. 13). La diferencia entre cuadrados (residual) fue la fuente de variación más importante, contribuyendo en cada caso más del 80 % en la variabilidad total (Tabla 4). Asimismo, las diferencias entre localidades explicaron aproximadamente un 13 % en la zona media (Tabla 4).

Stramonita haemastoma presentó un rango de talla que varió entre 4 y 49 mm. Su estructura de talla presentó una distribución unimodal en los tres tiempos de

muestreo (Fig. 14). En T1 y T3 la clase de talla más frecuente fue 21-25 mm, mientras que en T2 la clase 16-20 mm. Así, este muricido mostró para todo el estudio las siguientes tallas medias: 19.24 ± 0.38 (T1), 21.21 ± 0.39 (T2) y 22 ± 0.32 (T3) (media \pm EE). Se encontraron pocas diferencias significativas sobre la talla media de un tiempo de muestreo a otro (únicamente en P y G; Fig. 9). La talla media en P y H fueron mayoritariamente más cortas en los tres tiempos (Tabla 3). *S. haemastoma* presentó una talla media mayor en la zona baja que en la zona media en T2 y T3, aunque las tallas en ambas zonas no fueron diferentes significativamente respecto a la de la zona alta.

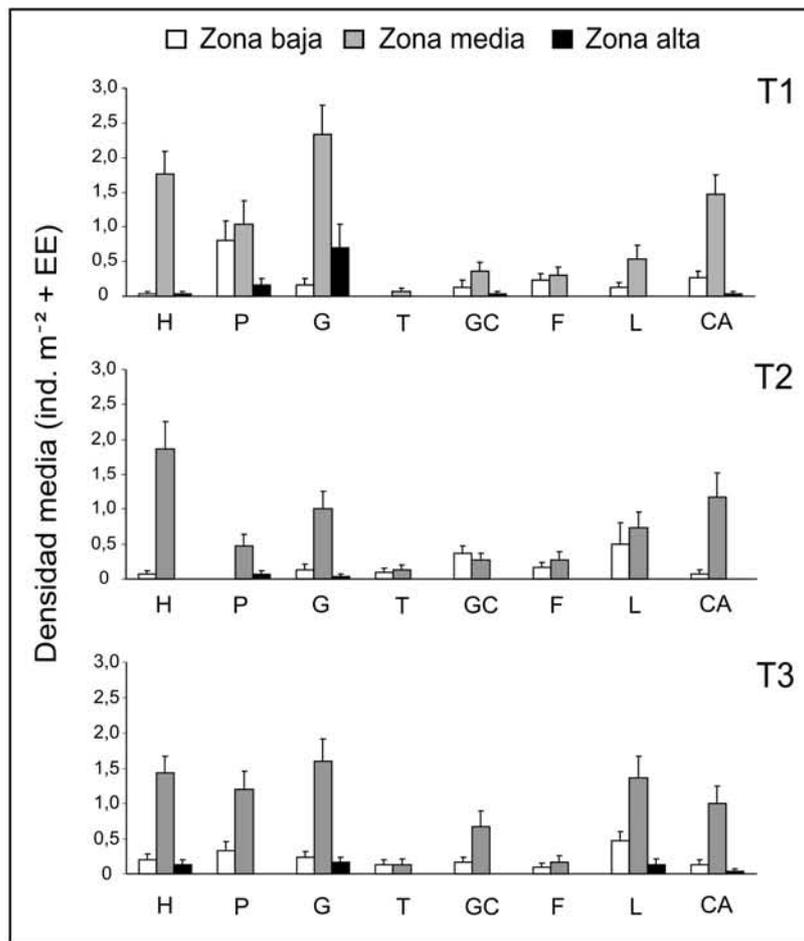


Figura 13. Densidad media de *Stramonita haemastoma* en cada zona intermareal por isla y tiempo de muestreo (abreviaturas como en la figura 6).

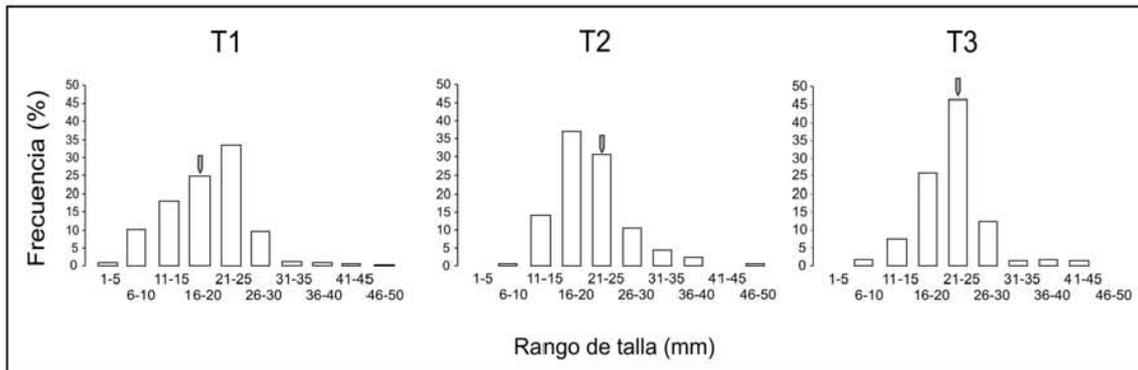


Figura 14. Diagrama de frecuencia de talla de *Stramonita haemastoma* en cada tiempo de muestreo. Las marcas indican donde esta situada la talla media.

4. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio indican que los patrones espaciales de distribución y abundancia de los organismos sobre las costas rocosas del Archipiélago Canario son muy variables horizontalmente. Por tanto, cualquier descripción futura de tales patrones debe incluir fuentes horizontales de variación independientemente de la escala investigada. Los patrones espaciales fueron muy variables a escalas pequeñas (sitios separados por 10s de m), siendo mayoritariamente inconsistentes de un tiempo a otro. Aunque las diferencias entre sitios no explicaron mucho la variabilidad encontrada, las diferencias entre cuadrados (separados desde 10s de cm hasta 10 m) fueron la fuente de variación más importante para todas las especies. Esta observación – una alta variabilidad de los patrones espaciales de distribución y abundancia a pequeñas escalas – ha sido similarmente observada en muchos estudios a lo largo del mundo (p. ej. Chapman, 1994; Archambault y Bourget, 1996; Underwood y Chapman, 1996, 1998; Menconi *et al.*, 1999; Benedetti-Cecchi, 2001; Underwood, 2004; Fraschetti *et al.*, 2005), incluyendo el Archipiélago Canario (Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005, 2009; Tuya *et al.*, 2006). De este modo, esto ha sido considerado como una regla

general de las comunidades de invertebrados en los hábitats costeros marinos (Anderson *et al.*, 2005; Frascchetti *et al.*, 2005).

Por otro lado, las especies estudiadas mostraron una abundancia más alta en un nivel particular de la costa que en los otros (Fig. 15). *Osilinus atrata*, *Patella rustica* y *Stramonita haemastoma* fueron más abundantes (≈ 80 , > 90 y > 75 % del total de ejemplares registrados respectivamente) en la zona intermareal media; *Patella candei crenata* fue también más abundante en esa zona (≈ 60 %) pero sin diferencias significativas con respecto a la zona baja (≈ 40 %); *Osilinus sauciatus* y *Patella aspera* fueron, sin embargo, más abundantes en las zonas alta (> 80 %) y baja (> 75 %), respectivamente (Fig. 15). Todos estos patrones verticales fueron constantes para las islas analizadas (separadas de 10s hasta 100s de km) y de un tiempo a otro. Además, estos resultados confirman ampliamente las descripciones previas para el Archipiélago Canario (Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005, 2006, 2009) y, para algunas especies (*Osilinus* spp., *P. aspera* y *P. rustica*), los patrones fueron consistentes incluso con aquellos procedentes de otras regiones costeras (p. ej. Portugal, Mediterráneo, norte de la Península Ibérica e Irlanda; Della Santina y Chelazzi, 1991; Peña, 1995; Delany *et al.*, 1998; Menconi *et al.*, 1999; Boaventura *et al.*, 2002b). Aunque *O. atrata* mostró algunas diferencias de abundancia entre las zonas alta y baja de un tiempo a otro, éstas no parecen ser importantes debido a la escasez de ejemplares registrados en dichas zonas; este hecho podría estar relacionado con las migraciones verticales de la especie (ver comentarios más abajo).

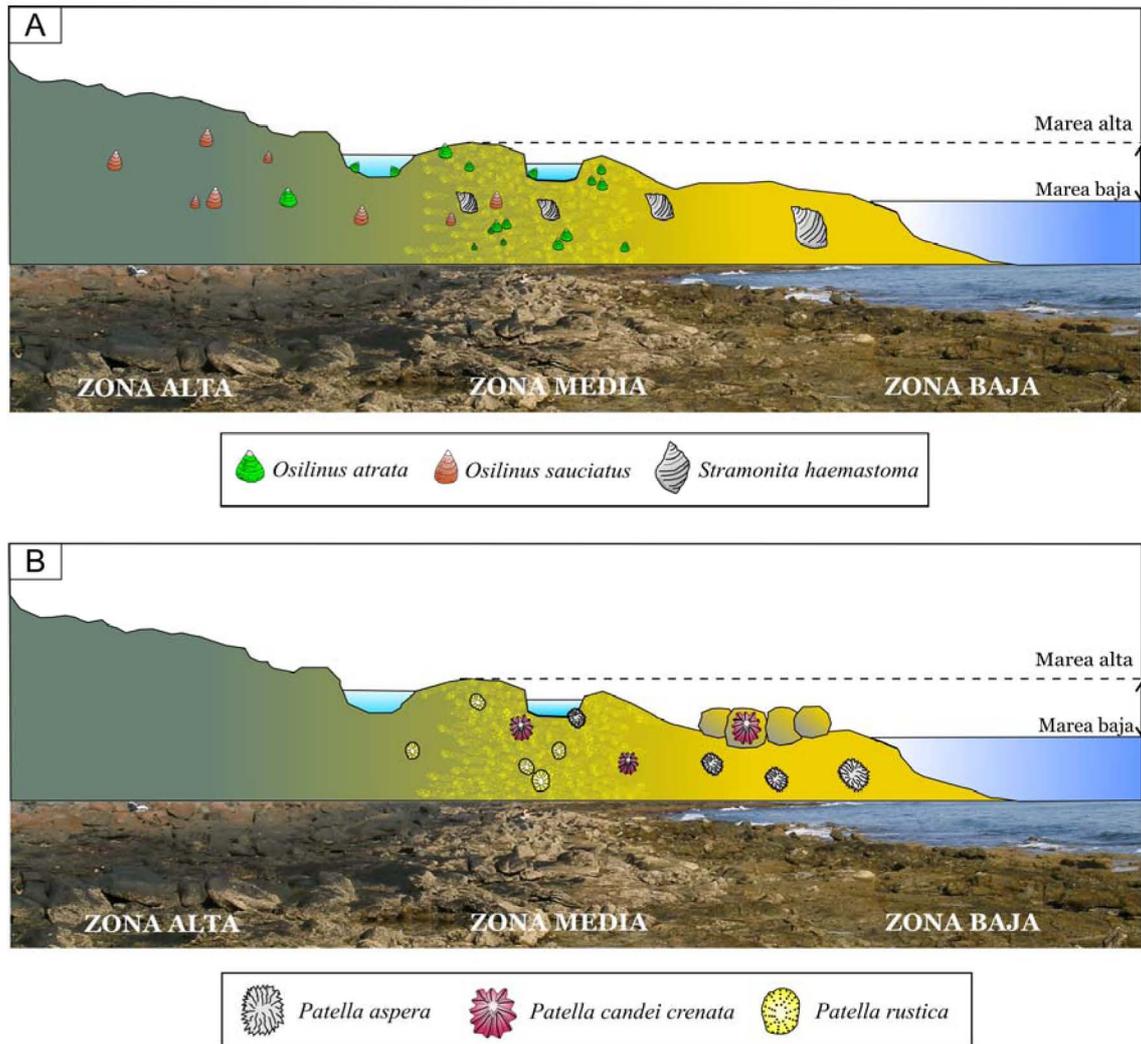


Figura 15. Patrones de distribución espacial de los tróquidos (A), el murícido (A) y las lapas (B) a lo largo del eje vertical en las costas rocosas de las Islas Canarias.

Los patrones descritos aquí y en los trabajos experimentales previos pueden suministrar pistas sobre las causas de variación espacial en las costas canarias. Sin embargo, son necesarias más investigaciones experimentales específicas para conocer cuales son exactamente sus importancias como fuentes de variación. Además del efecto del estrés ambiental, como por ejemplo, la acción del oleaje junto a la gran amplitud de marea (hasta 3 m), otros factores parecen tener un gran poder para explicar los patrones espaciales de distribución y abundancia a pequeñas escalas (menos de metros hasta 10s de m) tanto en los ejes horizontal como vertical. Entre esos factores, las características

físicas del hábitat han sido ampliamente consideradas (p. ej. Raffaelli y Hughes, 1978; Bergeron y Bourget, 1986; Chapman, 1994; Archambault y Bourget, 1996; Beck, 2000; Underwood, 2004). Éstas pueden inicialmente influir sobre el asentamiento de multitud de organismos bentónicos (Crisp y Barnes, 1954; Lemire y Bourget, 1996; Walters y Wethey, 1996; Lapointe y Bourget, 1999). Así, el sustrato volcánico, como aquel en las plataformas estudiadas, es considerado más irregular que el sedimentario, lo que puede afectar no sólo al asentamiento de las larvas sino al crecimiento de determinadas microalgas que sirven como alimento (Cantos *et al.*, 1994). Particularmente, las lapas habitaban sobre sustratos con diferente tipo de superficie: rugosa (principalmente *Patella aspera* y *Patella rustica*) y lisa (*Patella candei crenata*) (observación personal). Asimismo, la presencia de diferentes elementos estructurales (p. ej. grietas, huecos, etc.) sobre el sustrato suministran adecuados refugios contra el estrés ambiental o la predación (Raffaelli y Hughes, 1978; Menge y Lubchenco, 1981; Leviten y Khon, 1980; Atkinson y Newbury, 1984; Garrity, 1984; Moreno *et al.*, 1993; William y Morritt, 1995; Archambault y Bourget, 1996; Fig. 16). Estos elementos pueden afectar a la densidad de los organismos e incluso ampliar su distribución en el eje vertical (Raffaelli y Hughes, 1978; Bergeron y Bourget, 1986; Menconi *et al.*, 1999; Beck, 2000; Rilov *et al.*, 2001). Aunque, en este estudio, la complejidad del sustrato (porcentaje de huecos y grietas) varió entre las zonas intermareales, ésta fue mayor en la zona media, justo la zona donde ocurrieron todas las especies estudiadas y cuatro de ellas obtuvieron sus mayores abundancias. Esto pudo estar relacionado con un efecto suave de los factores físicos (p. ej. desecación) y biológicos (p. ej. predación) sobre la zona media, los cuales ocurren sobre todo en las zonas alta y baja, respectivamente; dichos factores no sólo influyen sobre los límites de distribución sino que también permiten la coexistencia de los organismos (Connell, 1972; Menge y Sutherland, 1987; Tomanek y Helmuth, 2002).

Osilinus spp., *P. rustica* y *Stramonita haemastoma* fueron las habitantes más frecuentes en grietas y huecos (Fig. 16), hecho que sobre las costas mediterráneas incrementó la abundancia de la lapa y el muricido, e incluso la distribución vertical de la lapa (Menconi *et al.* 1999; Rilov *et al.*, 2001). Es importante advertir que *O. atrata*, *P. aspera* y *S. haemastoma* también usaron los charcos como refugio (observación personal). *O. atrata* ocupó frecuentemente charcos en las zonas media y alta, probablemente debido a su menor preparación para resistir la desecación que *O. sauciatu*s (Ramírez *et al.*, 2005) durante la marea baja. *P. aspera* mostró un patrón similar a aquel observado por Delany *et al.* (1998) para *Patella ulyssiponensis* (\approx *P. aspera*); esto es, su distribución restringida a la zona baja se extendió hacia las zonas superiores de la costa por la ocupación de charcos permanentemente. *S. haemastoma*, sin embargo, ocupó frecuentemente charcos en la zona baja, quizá debido a sus preferencias alimenticias o para protegerse frente a la fuerte acción del oleaje.



Figura 16. Grieta en la zona media ocupada por tróquidos (*Osilinus atrata*) y lapas (*Patella rustica*).

Los patrones de distribución y la abundancia de los animales intermareales son explicados frecuentemente por el comportamiento de las especies bajo consideración. Los animales móviles grandes, particularmente los moluscos, cambian diariamente de

hábitat para refugiarse o alimentarse, con variaciones dependiendo de la marea, la hora o la estación (Frank, 1965; Branch, 1975; Garrity, 1984; Fairweather, 1988; Della Santina y Chelazzi, 1991; Evans y Williams, 1991; Moreno *et al.*, 1993; Takada, 1996; Chapman, 2000). Las especies estudiadas fueron inactivas a marea baja, manteniéndose dentro de los refugios o formando grupos de muchos ejemplares (Fig. 17). La agregación de los moluscos intermareales es un fenómeno común, el cual puede ser originado por diferentes razones tales como: la acción del oleaje, la desecación, la predación o el clima (Gosselin y Bourget, 1989; Chapman, 1995; 1998; Chapman y Underwood, 1996; Coleman *et al.*, 2004, 2006a). Con la subida y la bajada de las mareas las lapas no mostraron movimientos detectables a simple vista, el murícido se movió en raras ocasiones, mientras que los tróquidos fueron más activos. Estas observaciones parecen indicar que las lapas y el murícido se mueven principalmente a marea alta, como ha sido detectado previamente para especies como *Patella coerulea* (Della Santina y Chelazzi, 1991), *Cellana grata* (Williams y Morrill, 1995), *Stramonita haemastoma* o *Thais* spp. (Connell, 1970; Fairweather, 1988; Rilov *et al.*, 2001; Papp y Duarte, 2001), aunque sus movimientos pueden estar limitados por predadores submareales (Garrity, 1984). Para las lapas, también se ha observado que el choque de las olas puede actuar como precursor del movimiento (Garrity, 1984; Williams y Morrill, 1995). Así, por ejemplo, el ramoneo de *Patella rustica* es fuertemente dependiente a la acción de las grandes olas en el Mediterráneo que, sin embargo, no parece ocurrir a marea alta (Della Santina y Chelazzi, 1991). En el Archipiélago Canario el ramoneo de *Patella candei crenata* parece estar igualmente relacionado con el choque de las olas, tanto de día como de noche (Ramírez, 2008). Por otro lado, existen migraciones verticales a largo plazo relacionadas con las estaciones, el crecimiento y la reproducción (Smith y Newell, 1955; Connell, 1961, 1970; Frank,

1965; Branch, 1975; Moreno *et al.*, 1993; William y Morritt, 1995; Takada, 1996). A pesar de la consistencia de los patrones espaciales en el eje vertical, *Osilinus atrata* presentó, para todo el Archipiélago, una mayor abundancia en la zona superior en verano (T1 y T3) que en la zona baja, pero no se detectaron diferencias significativas en invierno (T2). Este resultado parece responder a una migración vertical estacional, en la cual los organismos migran hacia arriba en verano mientras que descienden en invierno. Este mismo patrón migratorio se ha observado para otros tróquidos, como el registrado por Takada (1996) para *Monodonta labio* en Japón, el cual estaba relacionado con una fluctuación estacional en la abundancia de microalgas.



Figura 17. La agregación de tróquidos (*Osilinus sauciatus*) puede reducir el efecto de la desecación y la acción del oleaje.

Muchos patrones de distribución y abundancia son explicados por las relaciones existentes entre las especies – esto es, interacciones positivas y negativas – las cuales responden a factores limitantes como el espacio o el alimento (Dayton, 1971; Branch,

1975, 1976; Steneck, 1982; Fletcher y Underwood, 1987; Della Santina y Chelazzi, 1991; Johnson *et al.*, 1997; Delany *et al.*, 2002; Dunmore y Schiel, 2003; Arrontes *et al.*, 2004). Así, cuando los organismos dominantes (p. ej. algas cespitosas, algas incrustantes o sacabocacos) son eliminados del sustrato, otras especies (p. ej. lapas) pueden extender su rango vertical de distribución o cambiar su abundancia local (Benedetti-Cecchi *et al.*, 1999). Del mismo modo, las eliminaciones entre especies similares de lapas pueden originar tanto cambios sobre sus patrones de distribución o sus preferencias alimenticias (Branch, 1976; Della Santini y Chelazzi, 1991; Todgham *et al.*, 1997), como variaciones sobre la mortalidad, la talla o el peso (Boaventura *et al.*, 2002a). En este caso, *Patella aspera* ocurrió mayoritariamente sobre sustratos cubiertos por algas coralináceas costrosas (Fig. 18), incluso en los charcos. Se sabe que este tipo de algas influyen sobre la distribución y abundancia – incrementan el asentamiento de larvas o sirven como alimento – de *Patella ulyssiponensis* (Delany *et al.*, 1998, 2002), además de otras lapas (p. ej. *Tectura testudinalis*, Steneck, 1982; ver Delany *et al.*, 2002 para más ejemplos). *Patella candei crenata* mostró, sin embargo, una amplia distribución en la costa, lo que demuestra su plasticidad para adaptarse a diferentes ambientes e incluso a diferentes tipos de alimento. *P. aspera* y *P. candei creanta* pueden también habitar en ambientes submareales. Por tanto, *P. candei creanta* puede ser considerada una especie generalista por su habilidad para reclutar, crecer y reproducirse en diferentes hábitats intermareales y submareales. Por el contrario, *Patella rustica* mostró una distribución restringida a las zonas emergidas, donde ésta fue principalmente observada en presencia del sacabocado *Chthamalus stellatus* (Fig. 18). La distribución de muchas especies de lapas (p. ej. *Patella granularis*, *Cellana ornata*, *Lottia digitalis*, etc.) está relacionada con aquella de los sacabocacos (Branch, 1976; Wootton, 1993; ver Dunmore y Schiel, 2003 para más ejemplos). Esta asociación puede

resultar tanto en efectos positivos como negativos sobre las poblaciones de lapas. Mientras la superficie heterogénea suministrada por los sacabocacos puede reducir el estrés físico de la desecación y la acción del oleaje (Wootton, 1993; Dunmore y Schiel, 2003), la presencia de sacabocacos puede también disminuir la talla, el crecimiento, el rendimiento reproductivo o reducir el área disponible para ramonear de las lapas (Branch, 1976; Wootton, 1993; Benedetti-Cecchi *et al.*, 1999; Dunmore y Schiel, 2003). Particularmente, *P. rustica* ha mostrado un ramoneo irregular, posiblemente una mayor eficiencia metabólica que otras especies (Della Santina y Chelazzi, 1991) y una freza altamente sincronizada una vez al año (Peña *et al.*, 1987; Peña, 1995). Por otro lado, los tróquidos, al igual que las lapas, mostraron una segregación vertical (ver más arriba), lo que pudo minimizar la competencia interespecífica por el espacio o el alimento. Por el contrario, no se observó ninguna interacción significativa para *Stramonita haemastoma*. Además de la comida, en algunas ocasiones no considerada como factor limitante para esta especie (Rilov *et al.*, 2001), la abundancia de caracoles predadores puede ser altamente variable debido a los factores físicos (p. ej. Menge, 1978; Menge *et al.*, 1994; Rilov *et al.*, 2001).



Figura 18. *Patella aspera* (fotografía de la izq.) y *Patella rustica* (fotografía de la dcha.) mostraron interacción con las algas coralináceas costrosas y los sacabocacos en las zonas baja y media, respectivamente.

Los patrones espaciales de distribución y abundancia fueron muy variables a escalas intermedias (localidades separadas por 10s de km), siendo principalmente inconsistentes de un tiempo a otro. Frecuentemente, las diferencias entre localidades explicaron la variabilidad encontrada mejor que aquellas entre sitios, sobre todo para la zona media. Este resultado probablemente indica que los factores que ocurren a escalas intermedias tienen una gran influencia sobre la organización de las zonas intermareales – esto es, sobre los organismos dominantes (p. ej. sacabocados) de cada zona – y, de este modo, sobre el resto de especies que habitan sobre ellas. Diversos factores pueden explicar los patrones observados, como por ejemplo, las variaciones ocurridas entre islas (ver los detalles más abajo) debidas a condiciones geofísicas (p. ej. edad) y oceanográficas (p. ej. procesos de afloramiento), las cuales pueden reproducirse en cada isla. Además, la exposición al oleaje puede cambiar enormemente según la orientación (Benedetti-Cecchi *et al.*, 2003), lo que afecta a la distribución de los organismos (Harley y Helmuth, 2003). En el caso del Archipiélago existe una clara diferenciación entre las caras norte y sur de las islas. Por otro lado, las variaciones en el reclutamiento (y/o mortalidad) producen cambios sobre la abundancia de los organismos de una costa a las otras, especialmente sobre las especies intermareales que se dispersan por un estado larvario planctónico pero que tienen una movilidad limitada de adulto (Underwood y Chapman, 1996). Se ha demostrado que los organismos con este tipo de dispersión tienen mayor variabilidad a grandes escalas (entre costas) que en el caso de especies de desarrollo directo (Johnson *et al.* 2001). Por tanto, ya que las especies analizadas se dispersan por larvas planctónicas (Liu *et al.*, 1991; Peña, 1995; Nuñez, 1995a), los aspectos del reclutamiento parecen estar relacionados con la alta variabilidad registrada entre localidades. Más aún, los impactos antropogénicos (p. ej. marisqueo) que varían según la accesibilidad, la protección legal (p. ej. área marina protegida), la vigilancia,

etc. pueden originar grandes diferencias a estas escalas de investigación (ver el segundo capítulo de esta tesis).

Cuando la escala de observación se incrementó, hasta islas separadas desde 10s hasta 100s de km, la variación espacial decreció, encontrándose patrones espaciales más estables. Esto ha sido un patrón común en los estudios previos (Fraschetti *et al.*, 2005) incluyendo aquellos en el Archipiélago Canario (Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005, 2009; Tuya *et al.*, 2006). Sin embargo, diversos factores como las diferencias geofísicas o las condiciones oceanográficas deben ser tenidos en consideración como fuentes potenciales de variación a grandes escalas (Bustamante y Branch, 1996; Benedetti-Cecchi *et al.*, 2001; Menge, 2000; Broitman *et al.*, 2001; Denny *et al.*, 2004), incluso generando diferencias entre las islas y los continentes (Benedetti-Cecchi *et al.*, 2003; Ramírez *et al.*, 2009). En este caso, únicamente *Osilinus sauciatus* mostró diferencias significativas entre las islas, además de una distribución restringida sobre las islas orientales. Estos resultados parecen estar relacionados con la disponibilidad del hábitat; esto es, extensas plataformas con suave pendiente, especialmente en la zona superior. La presencia de plataformas intermareales más extensas a lo largo de las islas orientales (como se observó) puede favorecer la disipación de la energía del oleaje, el asentamiento de larvas, la disponibilidad de alimento e incluso la aparición (especiación) de ambos tróquidos en el pasado (Ramírez *et al.*, 2005). Por otro lado, los estudios recientes sugieren que los procesos de afloramiento pueden tener importantes efectos sobre la estructura comunitaria del intermareal rocoso (p. ej. Bustamante y Branch, 1996; Connolly y Roughgarden, 1998; Menge *et al.*, 1999; Menge, 2000; Broitman *et al.*, 2001; Nielsen y Navarrette, 2004; Blanchette *et al.*, 2006). La localización del Archipiélago Canario a lo largo del NACTZ (*Northwest African*

Coastal Transition Zone) hace a las poblaciones intermareales del intermareal rocoso altamente susceptibles de responder a los procesos de afloramiento (nutrientes y productividad), particularmente aquellas en las islas orientales (Llinás *et al.*, 1994; Pacheco y Hernández-Guerra, 1999; Davenport *et al.*, 2002; Fig. 19). Este fenómeno puede incluso reproducirse a escala local debido a la geomorfología de la costa, como por ejemplo, en la costa oeste de F y L. Previamente, Tuya *et al.* (2006) demostraron que los tróquidos parecían responder a los efectos del afloramiento, pero esto no pudo ser probado para los ramoneadores muy recolectados como las lapas. Ellos supusieron que una fuerza *top-down* (control por los consumidores) como la colección por los humanos pudo enmascarar la regulación esperada por el afloramiento de las poblaciones intermareales. Los resultados registrados para tróquidos y lapas en este estudio fueron muy similares a aquellos encontrados por Tuya *et al.* (2006); en el caso del murícido, éste presentó, en general, una mayor abundancia en las islas occidentales, mucho menos afectadas por los efectos del afloramiento. Por tanto, los factores que ocurren a escala pequeña e intermedia, probablemente relacionados con los procesos *top-down*, deben tener un gran poder para explicar los patrones espaciales de distribución y abundancia en las costas canarias. Además, a pesar de la gran abundancia de lapas en el AC, no se detectaron diferencias entre islas, quizá debido a la alta variabilidad dentro de éstas, lo cual obscureció dicha detección (ver el segundo capítulo de esta tesis).

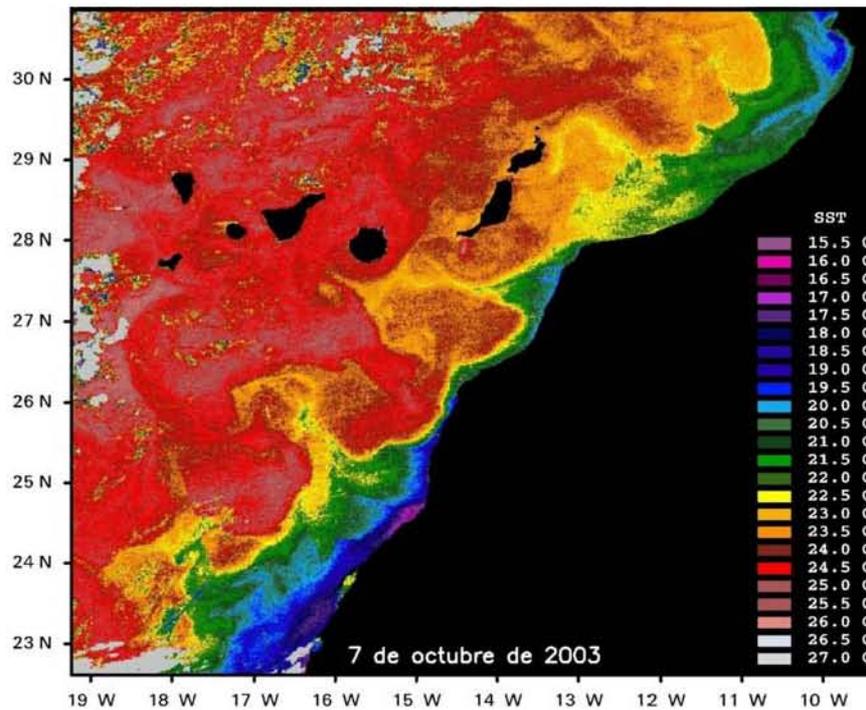


Figura 19. El afloramiento costero que ocurre en el noroeste de África provoca el ascenso de aguas sub-superficiales frías y ricas a la superficie que constantemente alcanzan el Archipiélago Canario (p. ej. Llinás *et al.*, 1994; Davenport *et al.*, 2002). La imagen de arriba muestra la temperatura superficial del mar, la cual está varios grados más baja en las islas orientales que en las occidentales. Imagen suministrada por SEAS-Canarias (ULPGC).

El tiempo fue solamente importante como interacción a escalas pequeña e intermedia. Únicamente la abundancia de *Osilinus atrata* varió de forma significativa de un tiempo a otro, mostrando una disminución desde T1 a T3. Este resultado pudo ser causado por una recolección continuada en el tiempo por parte de los humanos o por fallos en el reclutamiento. Así, la variación temporal considerada pudo no ser suficiente para detectar diferencias entre verano (T1 y T3) e invierno (T2). No obstante, el clima en el Archipiélago Canario no muestra grandes cambios estacionales, sólo dos estaciones más variables, verano e invierno. Por tanto, para contrastar si estas variaciones estacionales son suficientes o no para detectar diferencias significativas de

una estación a otra, son necesarios más muestreos durante un año y repetirlos varios años.

Las especies estudiadas mostraron tallas muy variables para las fuentes de variación consideradas (tiempo, isla y zona), aunque la baja abundancia registrada para la mayoría de las especies posiblemente obscureció la detección de diferencias significativas. Las diferencias de talla entre tiempos e islas no mostraron ningún patrón específico, mientras que un gradiente de talla para el nivel de la costa pudo ser establecido para algunas especies. En este sentido, Vermeij (1972) indicó que los moluscos intermareales muestran dos patrones intraespecíficos de distribución de la talla: (1) un incremento en la talla hacia el intermareal superior para las especies que viven más altas en la costa y (2) la tendencia contraria para las especies que viven en el intermareal más bajo. Estos gradientes están generalmente relacionados con las diferentes mortalidades de los gasterópodos más pequeños, principalmente debidas a la desecación en las zonas superiores y a la predación en las más bajas (Vermeij, 1972). En este caso, *Osilinus atrata*, *Osilinus sauciatus* y *Patella rustica* deberían haber sido más grandes en la zona alta, aunque únicamente el primero mostró dicho patrón de una forma más clara (ver Fig. 10); patrón que fue previamente detectado para ambos tróquidos (Ramírez *et al.*, 2005). Por el contrario, *Patella aspera*, *Patella candei crenata* y *Stramonita haemastoma* fueron, de manera general, más grandes en la zona baja. Se sabe que estas lapas son incluso más grandes en hábitats submareales que intermareales (Nuñez, 1995a), mientras que, en un estudio previo, el murícido no mostró diferencias de talla entre las zonas intermareales (Ramírez *et al.* 2009).

Algunas de las disimilitudes previas y la alta variabilidad registrada indican que multitud de factores (p. ej. acción del oleaje, migraciones verticales, interacciones competitivas, disponibilidad de alimento, colección por los humanos, etc.) pueden influir sobre la talla de los moluscos intermareales estudiados. Por un lado, la fuerza de las olas puede limitar la talla de los organismos intermareales (Denny *et al.*, 1985; Boulding, 1990), lo que provoca diferencias entre las costas expuestas (ejemplares pequeños) y abrigadas (ejemplares grandes) (p. ej. litorínidos, Struhsaker, 1968; lapas, Todgham *et al.*, 1997; caracoles predadores, Richardson y Brown, 1990; Brown *et al.*, 2004). En este caso, las lapas y el murícido mostraron diferencias de talla más claras entre costas expuestas y protegidas que los tróquidos (observación personal). La propia morfología de las dos especies de tróquidos, sin embargo, corresponde con aquellos organismos de costas expuestas y abrigadas (ver Ramírez *et al.*, 2005), que también indica sus preferencias de hábitat verticalmente. Por otro lado, las migraciones verticales (ver referencias más arriba) y el crecimiento diferencial dependiendo de los niveles de la costa (p. ej. Sutherland, 1970; Takada, 1995, 1996) pueden generar diferencias en el gradiente vertical de la talla. *Osilinus atrata* – única especie con una posible migración vertical según los datos de la abundancia – no mostró un gradiente vertical de talla diferente de un tiempo a otro; no obstante, para ésta y para el resto de las especies podría detectarse dicho gradiente (incluso entre los hábitats submareales e intermareales) si se considerara un estudio específico sobre el tema. Más aún, las grandes densidades de lapas resultan en disminuciones del crecimiento de la concha (Marshall y Keough, 1994; Boaventura *et al.*, 2002a; Dunmore y Schiel, 2003), como puede observarse sobre todo para *Patella aspera* (ver Fig. 18). La presencia de sacabocaos puede igualmente deprimir la talla de *Patella rustica* (ver Fig. 18); también de *Patella candei crenata* cuando habita en la zona media. En otros casos, el

crecimiento de los animales puede disminuir dependiendo de la disponibilidad de alimento (Mckillup y Butler, 1983; Burrows y Hughes, 1990; Ota y Tokeshi, 2000), especialmente para los caracoles predadores como *Stramonita haemastoma* (Ramírez *et al.*, 2009). Además, se sabe que la acción humana puede reducir drásticamente la talla de muchas especies marinas con interés alimenticio, entre las cuales se encuentran las especies aquí consideradas (ver el segundo capítulo de esta tesis).

Finalmente, los diagramas de frecuencia de talla no mostraron cambios notables entre los tiempos de muestreo y tampoco parecen reflejar períodos reproductivos, en los cuales aumentan los ejemplares jóvenes. Las distribuciones de tallas fueron principalmente unimodales y los rangos de talla más frecuentes similares a los obtenidos previamente (Nuñez, 1995a, b; Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005, 2009). Esto podría indicar, por un lado, que la freza ocurre mayoritariamente una vez al año y con una alta sincronización (especialmente para *Patella rustica*, *Osilinus* spp. y *Stramonita haemastoma*), mientras que, por otro lado, la ausencia de un incremento notable de la talla con el paso del tiempo. En este sentido, los ciclos reproductivos para las especies estudiadas no han sido completamente determinados en el Archipiélago Canario (Nuñez, 1995a) y los conocimientos en cuanto al crecimiento son aún más escasos (Nuñez, 1995b; Carillo y Cruz, 2009). Particularmente, se ha determinado que el murícido muestra un rango de talla más reducido en los sistemas insulares, como en Canarias (como se observó), respecto a las áreas continentales (Ramírez *et al.*, 2009). Además, para todas las especies, los diagramas de frecuencia de talla mostraron una clara asimetría positiva, lo que implica una baja abundancia de los ejemplares más grandes. Esto probablemente indica que la predación humana ha sido tanto intensa

como frecuente (Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005, 2009; ver el segundo capítulo de esta tesis).

5. REFERENCIAS

- Afonso, L. 1988. *Geografía de Canarias*. Santa Cruz de Tenerife: Interinsular.
- Alfaro, A. C. y Carpenter, R. C. 1999. Physical and biological processes influencing zonation patterns of a subtidal population of the marine snail, *Astraea (Lithopoma) undosa* Wood 1828. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 240: 259-283.
- Anderson, M. J., Connell, S. D., Gillanders, B. M., Diebel, C. E., Blom, W. M., Saunders, J. E. y Landers, T. J. 2005. Relationships between taxonomic resolution and spatial scales of multivariate variation. *Journal of Animal Ecology*, 74: 636-646.
- Archambault, P. y Bourget, E. 1996. Scales of coastal heterogeneity and benthic intertidal species richness, diversity and abundance. *Marine Ecology Progress Series*, 136: 111-121
- Arrontes, J., Arenas, F., Fernández, C., Rico, J. M., Oliveros, J., Martínez, B., Viejo, R. M. y Alvarez, D. 2004. Effect of grazing by limpets on mid-shore species assemblages in northern Spain. *Marine Ecology Progress Series*, 277: 117-133.
- Atkinson, W. D. y Newbury, S. F. 1984. The adaptations of the rough winkle, *Littorina rudis*, to desiccation and to dislodgement by wind and waves. *Journal of Animal Ecology*, 53: 93-105.
- Beck, M. 2000. Separating the elements of habitat structure: independent effects of habitat complexity and structural components on rocky intertidal gastropods. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 249: 29-49.

- Benedetti-Cecchi, L. 2001. Variability in abundance of algae and invertebrates at different spatial scales on rocky sea shores. *Marine Ecology Progress Series*, 215: 79-92.
- Benedetti-Cecchi, L. y Cinelli, F. 1997. Spatial distribution of algae and invertebrates in the rocky intertidal zone of the Strait of Magellan: are patterns general?. *Polar Biology*, 18: 337-343.
- Benedetti-Cecchi, L., Bulleri, F. y Cinelli, F. 2000. The interplay of physical and biological factors in maintaining mid-shore and low-shore assemblages on rocky coasts in the north-west Mediterranean. *Oecologia*, 123: 406-417.
- Benedetti-Cecchi, L., Menconi, M. y Cinelli, F. 1999. Pre-emption of the substratum and the maintenance of spatial pattern on a rocky shore in the northwest Mediterranean. *Marine Ecology Progress Series*, 181: 13-23.
- Benedetti-Cecchi, L., Nuti, S. y Cinelli, F. 1996. Analysis of spatial and temporal variability in interactions among algae, limpets and mussels in low-shore habitats on the west coast of Italy. *Marine Ecology Progress Series*, 144: 87-96.
- Benedetti-Cecchi, L., Bulleri, F., Acunto, S. y Cinelli, F. 2001. Scales of variation in the effects of limpets on rocky shores in the northwest Mediterranean. *Marine Ecology Progress Series*, 209: 131-141.
- Benedetti-Cecchi, L., Maggi, E., Bertoci, T., Vaselli, S., Micheli, F., Osio, G. C. y Cinelli, F. 2003. Variation in rocky shore assemblages in the northwestern Mediterranean: contrasts islands and the mainland. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 293: 193-215.

- Bergeron, P. y Bourget, E. 1986. Shore topography and spatial partitioning of crevice refuges by sessile epibenthos in an ice disturbed environment. *Marine Ecology Progress Series*, 28: 129-145.
- Bertness, M. D. 1999. The ecology of Atlantic shorelines. Sinauers Associates, p. 417.
- Bishop, M. J., Underwood, A. J. y Archambault, P. 2002. Sewage and environmental impacts on rocky shores: necessity of identifying relevant spatial scales. *Marine Ecology Progress Series*, 236: 121-128.
- Blanchette, C. A., Broitman, B. R. y Gaines, S. D. 2006. Intertidal community structure and oceanographic patterns around Santa Cruz Island, CA, USA. *Marine Biology*, 149: 689-701.
- Boaventura, D., Cancela da Fonseca, L. y Hawkins, S. J. 2002a. Analysis of competitive interactions between the limpets *Patella depressa* Pennant and *Patella vulgata* L. on the northern coast of Portugal. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 271: 171-188.
- Boaventura, D., Cancela da Fonseca, L. y Hawkins, S. J. 2003. Size matters: competition within populations of the limpet *Patella depressa*. *Journal of Animal Ecology*, 72: 435-446.
- Boaventura, D., Ré, P., Cancela da Fonseca, L. y Hawkins, S. J. 2002b. Intertidal rocky shores communities of the continental Portuguese coast: analysis of distribution patterns. *Marine Ecology*, 23: 69-90.
- B.O.C. nº 79. Orden de 14 de abril de 2008, por la que se regula temporalmente el marisqueo profesional a pie, para la recolección de lapas.
- Boulding, E. G. 1990. Are the opposing selection pressures on exposed and protected shores sufficient to maintain genetic differentiation between gastropod populations with high intermigration rates?. *Hydrobiologia*, 193: 41-52.

- Branch, G. M. 1975. Mechanisms reducing intraespecific competition in *Patella* spp.: migration, differentiation and territorial behaviour. *Journal of Animal Ecology*, 44: 575-600.
- Branch, G. M. 1976. Intraespecific competition experienced by South African patella species. *Journal of Animal Ecology*, 45: 507-529.
- Branch, G. M. y Odendaal, F. 2003. The effects of marine protected areas on the population dynamics of a South African limpet, *Cymbula oculus*, relative to the influence of wave action. *Biological Conservation*, 114: 255-269.
- Broitman, B. R., Navarrete, S. A., Smith, F. y Gaines, S. D. 2001. Geographic variation of southern Pacific intertidal communities. *Marine Ecology Progress Series*, 224: 21-34.
- Brown, J. H. y Lomolino, M. V. 2000. Concluding remarks: Historical perspective and the future of island biogeography theory. *Global Ecology and Biogeography*, 9: 87-92.
- Brown, K. M., Mcdonough, M. y Richardson, T. D. 2004. Intraespecific life history variation in the southern oyster drill, *Stramonita haemastoma*: patterns and causes. *Journal of Shellfish Research*, 23: 149-155.
- Burrows, M. T. y Hughes, R. N. 1990. Variation in growth and consumption among individuals and populations of dogwhelks, *Nucella lapillus*: a link between foraging behaviour and fitness. *The Journal of Animal Ecology*, 59: 723-742.
- Bustamante, R. H. y Branch G. M. 1996. Large scale patterns and trophic structure of southern african rocky shores: the roles of geographic variation and wave exposure. *Journal of Biogeography*, 23: 339-351.
- Cantos, R., Mazón, P., Paredes, M. D., Picó, M. L., Sales, E. y Sánchez-Jerez, P. 1994. Aportación al conocimiento de las poblaciones de *Patella caerulea* y *P. aspera*

- en la reserva marina de Tabarca (Alicante): densidad poblacional y frecuencia de tallas según el tipo de sustrato y grado de presión antrópica, en Ramos Esplá, A. (coord.). *Trabajos de campo en la reserva marina de Tabarca*. Alicante, p. 45-52.
- Carracedo, J. C. 2001. Volcanismo reciente y riesgo volcánico, en Fernández-Palacios, J. M. y Martín, J. (dir. y coord.). *Naturaleza de las Islas Canarias. Ecología y Conservación*. Santa Cruz de Tenerife: Turquesa, p. 65-76.
- Carrillo, M. y Cruz, T. (dir. y coord.). 2009. *Estudio de las poblaciones y comunidades marinas del litoral del Parque Nacional de Timanfaya*. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. TRAGSEGA. p. 162.
- Castilla, J. C. y Durán, L. R. 1985. Human exclusion from the rocky intertidal zone of central Chile: the effects on *Concholepas concholepas* (Gastropoda). *Oikos*, 45: 391-399.
- Chapman, M. G. 1994. Small-scale patterns of distribution and size-structure of the intertidal littorinid *Littorina unifasciata* (Gastropoda: Littorinidae) in New South Wales. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 45: 635-652.
- Chapman, M. G. 1995. Aggregation of the littorinid snail *Littorina unifasciata* in New South Wales, Australia. *Marine Ecology Progress Series*, 126: 191-202.
- Chapman, M. G. 1998. Variability in trail-following and aggregation in *Nodilittorina unifasciata* Gray. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 224: 49-71.
- Chapman, M. G. 2000. A comparative study of differences among species and patches of habitat on movements of three species of intertidal gastropods. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 244: 181-201.

- Chapman, M. G. y Underwood, A. J. 1996. Influences of tidal conditions, temperature and desiccation on patterns of aggregation of the high-shore periwinkle, *Littorina unifasciata*, in New South Wales, Australia. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 196: 213-237.
- Coleman, M. A. 2003. The role of recruitment in structuring patterns of small-scale spatial variability in intertidal and subtidal algal turfs. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 291: 131-145.
- Coleman, R. A., Browne, M. y Theobalds, T. 2004. Aggregation as a defense: limpet tenacity changes in response to simulated predator attack. *Ecology*, 85 (4): 1153-1159.
- Coleman, R. A., Hawkins, S. J. y Wood, H. L. 2006a. Testing the reproductive benefits of aggregation: the limpet *Patella vulgata* shows no evidence of synchrony in gonad development. *Marine Ecology Progress Series*, 306: 201-207.
- Coleman, R. A., Underwood, A. J., Benedetti-Cecchi, L., Aberg, P., Arenas, F., Arrontes, J., Castro, J., Hartnoll, R. G., Jenkins, S. R., Paula, J., Santana, P. D. y Hawkins, S. J. 2006b. A continental scale evaluation of the role of limpet grazing on rocky shores. *Oecologia*, 147: 556-564.
- Colman, J. 1933. The nature of the intertidal zonation of plants and animals. *Journal of Marine Biological Association of United Kingdom*, 18: 435-476.
- Connell, J. H. 1961. Effects of competition, predation by *Thais lapillus*, and other factors on natural populations of the barnacle *Balanus balanoides*. *Ecological Monographs*, 31: 61-104.
- Connell, J. H. 1970. A predator-prey system in the marine intertidal region. I. *Balanus glandula* and several predatory species of *Thais*. *Ecological Monographs*, 40: 49-78.

- Connell, J. H. 1972. Community interaction on marine habitats rocky intertidal shores. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 3: 169-192.
- Connolly, S. R. y Roughgarden, J. 1998. A latitudinal gradient in northeast Pacific intertidal community structure: evidence for an oceanographically based synthesis of marine community theory. *The American Naturalist*, 151: 311-326.
- Creese, R. G. y Kingsford, M. J. 1998. Organisms of reef and soft substrata intertidal environments, en Kingsford, M. y Battershill, C. N. (ed.). *Studying temperate marine environments. A handbook for ecologists*. New Zealand: Canterbury University Press, p. 167-193.
- Criado, C. 2001. Las formas de modelado, en Fernández-Palacios, J. M. y Martín, J. (dir. y coord.). *Naturaleza de las Islas Canarias. Ecología y Conservación*. Santa Cruz de Tenerife: Turquesa, p. 81-85.
- Crisp, D. J. y Barnes, H. 1954. The orientation and distribution of barnacles at settlement with particular reference to surface contour. *Journal of Animal Ecology*, 23: 142-162.
- Davenport, R., Never, S., Helmke, P., Pérez-Marrero, J. y Llinás, O. 2002. Primary productivity in the northern Canary Islands region as inferred from SeaWiFS imagery. *Deep-Sea Research II*, 49: 3481-3496.
- Dayton, P. K. 1971. Competition, disturbance and community organization: the provision and subsequent utilization of space in a rocky intertidal community. *Ecological Monographs*, 41: 351-389.
- Delany, J., Myers, A. A. y McGrath, D. 1998. Recruitment, immigration and population structure of two coexisting limpet species in mid-shore tidepools, on the west

- coast of Ireland. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 221: 221-230.
- Delany, J., Myers, A. y McGrath, D. 2002. A comparison of the interactions of the limpets *Patella vulgate* and *Patella ulyssiponensis* with crustose coralline algae, en A. Myers (Ed.). *New Survey of Clare Island*. vol: 3: *Marine Intertidal Ecology*. Dublin: Royal Irish Academy, p. 79-90.
- Della Santina, P. y Chelazzi, G. 1991. Temporal organization of foraging in two Mediterranean limpets, *Patella rustica* L. and *P. coerulea* L. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 153: 75-85.
- Denny, M. W., Daniel, T. L. y Koehl, M. A. R. 1985. Mechanical limits to size in wave-swept organisms. *Ecological Monographs*, 55: 69-102.
- Denny, M. W., Helmuth, B., Leonard, G. H., Harley, C. D. G., Hunt, L. J. H. y Nelson E. K. 2004. Quantifying scale in ecology: lessons from a wave-swept shore. *Ecological Monographs*, 74: 513-532.
- Dungan, J. L., Perry, J. N., Dale, M. R. T., Legendre, P., Citron-Pousty, S., Fortin, M. J., Jakomulska, A., Miriti, M. y Rosenberg, M. S. 2002. A balanced view of scale in spatial statistical analysis. *Ecography*, 25: 626-640
- Dunmore, R. A. y Schiel, D. R. 2003. Demography, competitive interactions and grazing effects of intertidal limpets in southern New Zealand. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 288, 17-38.
- Evans, M. R. y Williams, G. A. 1991. Time partitioning of foraging in the limpet *Patella vulgata*. *Journal of Animal Ecology*, 60: 563-575.
- Fairweather, P. G. 1988. Movements of intertidal whelks (*Morula marginalba* and *Thais orbita*) in relation to availability of prey and shelter. *Marine Biology*, 100: 63-68.

- Fletcher, W. J. y Underwood, A. J. 1987. Interspecific competition among subtidal limpets: effect of substratum heterogeneity. *Ecology*, 68: 387-400.
- Frank, P. W. 1965. The biodemography of an intertidal snail population. *Ecology*, 46: 831-844.
- Fraschetti, S., Terlizzi, A. y Benedetti-Cecchi, L. 2005. Patterns of distribution of marine assemblages from rocky shores: evidence of relevant scales of variation. *Marine Ecology Progress Series*, 296: 13-29.
- Garrity, S. D. 1984. Some adaptations of gastropods to physical stress on a tropical rocky shore. *Ecology*, 65: 559-574.
- Gosselin, L. A. y Bourget, E. 1989. The performance of an intertidal predator *Thais lapillus*, in relation to structural heterogeneity. *Journal of Animal Ecology*, 58: 287-303.
- Graham, M. H. 2001. Statistical significance versus fit: estimating the importance of individual factors in ecological analysis of variance. *Oikos*, 93: 505-513.
- Grosberg R. K. 1982. Intertidal zonation of barnacles: the influence of planktonic zonation of larvae on vertical distribution of adults. *Ecology*, 63: 894-899.
- Harley, C. y Helmuth, B. 2003. Local- and regional- scale effects of wave exposure, thermal stress and absolute versus effective shore level on patterns of intertidal zonation. *Limnology and Oceanography*, 48: 1498-1508.
- Haroun, R. J. 2001. El mar, en Fernández-Palacios, J. M. y Martín, J. (dir. y coord.). *Naturaleza de las Islas Canarias. Ecología y Conservación*. Santa Cruz de Tenerife: Turquesa, p. 103-107.
- Hawkins, S. J., Corte-Real, H. B. S. M, Pannacciulli, F. G., Weber L. C. y Bishop, J. D. D. 2000. Thoughts on the ecology and evolution of the intertidal biota of the Azores and other Atlantic islands. *Hydrobiologia*, 440: 3-17.

- Helmuth, B. S. T. y Hofmann, G. E. 2001. Microhabitats, thermal heterogeneity, and patterns of physiological stress in the rocky intertidal zone. *Biological Bulletin*, 201: 374-384.
- Helmuth, B., Harley, C., Halpin, P., O'Donnell, M., Hofman, G. y Blanchette, C. 2002. Climate change and latitudinal patterns of intertidal thermal stress. *Science* 298: 1015-1017.
- Hernán, F. 2001. Estructura geológica, en Fernández-Palacios, J. M. y Martín, J. (dir. y coord.). *Naturaleza de las Islas Canarias. Ecología y Conservación*. Santa Cruz de Tenerife: Turquesa, p. 59-63.
- Hewitt, J. E., Thrush, S. F., Cummings, V. J. y Turner, S. J. 1997. The effects of changing sampling scales on our ability to detect effects of large-scale processes on communities. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 227: 251-264.
- Horne, J. K. y Schneider, D. C. 1995. Spatial variance in ecology. *Oikos*, 74: 18-26.
- Huston, M. A. 1999. Local processes and regional patterns: appropriate scales for understanding variation in the diversity of plants and animals. *Oikos*, 86: 393-401.
- Hutchinson, N. y Willians, G. A. 2001. Spatio-temporal variation in recruitment on a seasonal, tropical rocky shore: the importance of local versus non-local processes. *Marine Ecology Progress Series*, 215: 57-68.
- Irving A. D., Connell S. D. y Gillanders B. M. 2004. Local complexity in patterns of canopy-benthos associations produces regional patterns across temperate Australasia. *Marine Biology*, 144 : 361-368.

- Johnson, M. P., Burrows, M. T., Hartnoll, R. G. y Hawkins, S. J. 1997. Spatial structure on moderately exposed rocky shores: patch scales and the interactions between limpets and algae. *Marine Ecology Progress Series*, 160: 209-215.
- Johnson, M. P., Allock, A. L., Pye, S. E., Chambers, S. J. y Fitton, D. H. 2001. The effects of dispersal mode on the spatial distribution patterns of intertidal molluscs. *Journal of Animal Ecology*, 70: 641-649.
- Kotliar, N. B. y Wiens, J. A. 1990. Multiple scales of patchiness and patch structure: a hierarchical framework for the study of heterogeneity. *Oikos*, 59: 253-260.
- Lapointe, L. y Bourget, E. 1999. Influence of substratum heterogeneity scales and complexity on a temperate epibenthic marine community. *Marine Ecology Progress Series*, 189: 59-170.
- Lawson, G. W. y Norton, T. A. 1971. Some observations on littoral and sublittoral zonation at Tenerife (Canary Islands). *Botanica Marina*, 14: 116-120.
- Lemire, M. y Bourget, E. 1996. Substratum heterogeneity and complexity influence micro-habitat selection of *Balanus* sp. and *Tubularia crocea* larvae. *Marine Ecology Progress Series*, 135: 77-87.
- Levin, S. A. 1992. The problem of pattern and scale in ecology. *Ecology*, 73: 1943-1967.
- Leviten, P. J. y Kohn, A. J. 1980. Microhabitat resource use, activity patterns, and episodic catastrophe: conus on tropical intertidal reef rock benches. *Ecological Monographs*, 50: 55-75.
- Liu, L. L., Foltz, D. W. y Stickle, W. B. 1991. Genetic population structure of the southern oyster drill *Stramonita (=Thais) haemastoma*. *Marine Biology*, 111: 71-79.

- Llinás, O., Rueda, M. J., Pérez-Martell, E. 1994. Características termohalinas y nutrientes en aguas de las plataformas insulares canarias a finales de primavera. *Boletín del Instituto Español de Oceanografía*, 10: 177-189.
- Lubchenco, J. y Menge, B. A. 1978. Community development and persistence in a low rocky intertidal zone. *Ecological Monographs*, 48: 67-94.
- Lüning, K. y Asmus, R. 1991. Physical characteristics of littoral ecosystems with special reference to marine plants, en Mathieson, A. C. y Nienhuis, P. H. *Intertidal and littoral ecosystems*. vol. 24: *Ecosystems of the world*. Amsterdam: Elsevier, p. 7-26.
- Martínez-González, M. A., De Irala, J. y Faulín, F. J. 2001. *Bioestadística Amigable*. Madrid: Díaz de Santos, p. 500.
- Marshall, P. A. y Keough, M. J. 1994. Asymmetry in intraspecific competition in the limpet *Cellana tramoserica* (sowerby). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 177: 121-138.
- Martins, G. M., Hawkins, S. J., Thompson, R. C. y Jenkins, S. R. 2007. Community structure and functioning in intertidal rock pools: effects of pool size and shore height at different successional stages. *Marine Ecology Progress Series*, 329: 43-55.
- Mckillup, S. C. y Butler, A. J. 1983. The measurement of hunger as a relative estimate of food available to populations of *Nassarius paupis*. *Oecologia*, 56: 16-22.
- Menconi, M., Benedetti-Cecchi, L. y Cinelli, F. 1999. Spatial and temporal variability in the distribution of algae and invertebrates on rocky shores in the northwest Mediterranean. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 233: 1-23.

- Menge, B. A. 1978. Predation intensity in a rocky intertidal community. *Oecologia*, 34: 1-16.
- Menge, B. A. 2000. Top-down and bottom-up community regulation in marine rocky intertidal habitats. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 250: 257-289.
- Menge, B. A. y Lubchenco, J. 1981. Community organization in temperate and tropical rocky intertidal habitats: prey refuges in relation to consumer pressure gradients. *Ecological Monographs*, 51: 429-450.
- Menge, B. A. y Sutherland, J. P. 1987. Community regulation: variation in disturbance, competition, and predation in relation to environmental stress and recruitment. *The American Naturalist*, 130: 730-757.
- Menge, B. A., Berlow, E. L., Blanchette, C. A., Navarrete, S. A. y Yamada, S. B. 1994. The keystone species concept: variation in interaction strength in a rocky intertidal habitat. *Ecological Monographs*, 64: 249-286.
- Menge, B. A., Daley, B. A., Lubchenco, J., Sanford, E., Dahlhoff, E., Halpin, P. M., Hudson, G., Burnaford, J. 1999. Top-down and bottom-up regulation of New Zealand rocky intertidal communities. *Ecological Monographs*, 69: 297-330.
- Mieszkowska N., Hawkins S.J., Burrows, M.T. y Kendall, M. A. 2007. Long-term changes in the geographic distribution and population structures of *Osilinus lineatus* (Gastropoda: Trochidae) in Britain and Ireland. *Journal of Marine Biological Association of United Kingdom*, 87: 537-545.
- Moreno, C. A., Reyes, A. y Asencio, G. 1993. Habitat and movements of the recruits of *Concholepas concholepas* (Mollusca; Muricidae) in the rocky intertidal of southern Chile. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 171: 51-61.

- Myers, A. y Delany, J. 2002. Overview: the ecology of *Patella vulgata* Linnaeus and *Patella ulyssiponensis* Gmelin on Clare Island, in Myers, A. *New Survey of Clare Island*. vol. 3: *Marine Intertidal Ecology*. Dublín: Royal Irish Academy, p. 67-68.
- Navarro, P. G., Ramírez, R., Tuya, F., Fernández-Gil, C., Sánchez-Jerez, P. y Haroun, R. J. 2005. Hierarchical analysis of spatial distribution patterns of Patellid limpets in the Canary Islands. *Journal of Molluscan Studies*, 71: 67-73.
- Nakaoka, M., Ito, N., Yamamoto, T., Okuda, T. y Noda, T. 2006. Similarity of rocky intertidal assemblages along the Pacific coast of Japan: effects of spatial scales and geographic distance. *Ecological Research*, 21: 425-435.
- Nielsen, K. J. y Navarrete, S. A. 2004. Mesoscale regulation comes from the bottom-up: intertidal interactions between consumers and upwelling. *Ecology Letters*, 7: 31-41.
- Núñez, J. (Dir.). 1995a. *Estudio ecológico del mejillón y otros moluscos en la isla de Fuerteventura (moluscos de interés marisquero: mejillón, lapas y burgados)*. Departamento de Biología Animal (Universidad de La Laguna) y Cabildo de Fuerteventura. La Laguna, p. 150.
- Núñez, J. (Dir.). 1995b. *Cartografía de la distribución, biología y evaluación de los recursos marisqueros de moluscos litorales (lapas, oreja y mejillón), segunda fase: islas de Lanzarote, La Gomera y El Hierro*. Departamento de Biología Animal (Universidad de La Laguna) y Consejería de Agricultura, Pesca y Alimentación (Gobierno de Canarias). La Laguna, p. 269.
- Núñez, J., Brito, M. C., Riera, R., Doctito, J. R. y Monterroso, O. 2003. Distribución actual de las poblaciones de *Patella candei* D'Orbigny, 1840 (Mollusca,

- Gastropoda) en las Islas Canarias. Una especie en peligro de extinción. *Boletín del Instituto Español de Oceanografía*, 19: 371-377.
- Ota, N. y Tokeshi, M. 2000. A comparative study of feeding and growth in two coexisting species of carnivorous gastropods. *Marine Biology*, 136: 101-114.
- Pacheco, M. M. y Hernández-Guerra, A. 1999. Seasonal variability of recurrent phytoplankton pigment patterns in the Canary Islands area. *International Journal of Remote Sensing*, 20: 1405-1418.
- Papp, M. y Duarte, L. 2001. Locomotion of *Stramonita haemastoma* (Linnaeus) (Gastropods, Muricidae) on a mixed shore of rocks and sand. *Revista Brasileira de Zoologia*, 18: 187-195.
- Peña, J., Yagüe, J. y Ibañez, M. 1987. Ciclos reproductores y variaciones del coeficiente radular de *Patella rustica* y *P. vulgata* (Mollusca: Gastropoda). *Iberus*, 7: 1-10.
- Peña, J. 1995. *Estudio de los ciclos reproductores de cuatro especies de lapas y dos tróquidos (Gastropoda, Prosobranchia) del piso intermareal de la costa vasca*. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. p. 442.
- Pérez-Martell, E., Llinás, O., Onken, R. y Zenk W. 1996. Variabilidad térmica del agua central noratlántica entre Gran Canaria y el talud shariano. Resultados preliminares, en Llinás, O., González, J. A. y Rueda M. J. (eds.). *Oceanografía y recursos marinos en el Atlántico Centro-Oriental*. Las Palmas de Gran Canaria., p 29-44.
- Raffaelli, D. G. y Hughes, R. N. 1978. The effects of crevice size and availability on populations of *Littorina rudis* and *Littorina neritoides*. *Journal of Animal Ecology*, 47: 71-83.

- Ramírez, M. B. 2008. Comportamiento alimentario de la lapa de pie negro *Patella candei crenata* (Mollusca: Patellidae). *Anales Universitarios de Etología*, 2: 50-55.
- Ramírez, R., Tuya, F. y Haroun, R. J. 2008. *El Intermareal Canario. Poblaciones de lapas, burgados y cañadillas*. Las Palmas de Gran Canaria: BIOGES - Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, p. 54.
- Ramírez, R., Tuya, F. y Haroun, R. J. 2009. Spatial patterns in the population structure of the whelk *Stramonita haemastoma* (Linnaeus, 1766) (Gastropoda: Muricidae) in the Canarian Archipelago (eastern Atlantic). *Scientia Marina*, 73 (3): 431-437.
- Ramírez, R., Tuya, F., Sánchez-Jerez, P., Fernández-Gil, C., Bergasa, O., Haroun, R. J. y Hernández-Brito, J. J. 2005. Population structure and spatial distribution of the gastropod molluscs *Osilinus atrata* and *Osilinus sauciatus* in the rocky intertidal zone of the Canary Islands. *Ciencias Marinas*, 31: 697-706.
- Ramírez, R., González, P., Jaraíz, R., Fernández, C., Tuya, F., Sánchez-Jerez, P., Bergasa, O., Boyra, A., Collado, C., Hernández, J. y Haroun, R. 2006. Spatial distribution patterns of limpets populations (*Patella* spp.) throughout the Canarian Archipelago, Spain (central east Atlantic), in Hayden, T. J., Murray, D. A. y O'Connor, J. P. (eds.). *Fauna and Flora of Atlantic Islands*. Dublin: Irish Biogeographical Society, p. 16-21.
- Richardson, T. D. y Brown, K. M. 1990. Wave exposure and prey size selection in an intertidal. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 142: 105-120.
- Ricklefs, R. E. 1987. Community diversity: relative roles of local and regional processes. *Science*, 235: 167-171.

- Rilov, G., Benayahu A. y Gasith, A. 2001. Low abundance and skewed population structure of the whelk *Stramonita haemastoma* along the Israeli Mediterranean coast. *Marine Ecology Progress Series*, 218: 189-202.
- Roy, K., Collins, A. G., Becker, B. J., Begovic, E. y Engle, J. M. 2003. Anthropogenic impacts and historical decline in body size of rocky intertidal gastropods in southern California. *Ecology Letters*, 6: 205-211.
- Sagarin, R. D., Barry, J. P., Gilman, S. E. y Baxter, C. H. 1999. Climate-related change in an intertidal community over short and long time scales. *Ecological Monographs*, 69: 465-490.
- Silva, A., Boaventura, D. y Ré, P. 2003. Population structure, recruitment and distribution patterns of *Patella depressa* Pennant, 1777 on the central Portuguese coast. *Boletín del Instituto Español de Oceanografía*, 19: 461-471.
- Smith, J. E. y Newell G. E. 1955. The dynamics of the zonation of the common periwinkle (*Littorina littorea* (L.)) on a stony beach. *Journal of Animal Ecology*, 24: 35-56.
- Sousa, W. P. 1984. Intertidal mosaics: patch size, propagule availability, and spatially variable patterns of succession. *Ecology*, 65: 1918-1935
- Steneck, R. S. 1982. A limpet-coralline alga association: adaptations and defenses between a selective herbivore and its prey. *Ecology*, 63: 507-522.
- Stephenson, T. A. y Stephenson, A. 1949. The universal features of zonation between tide-marks on rocky coasts. *The Journal of Ecology*, 37: 289-305.
- Struhsaker J. W. 1968. Selection mechanisms associated with intraspecific shell variation in *Littorina picta*. *Evolution*, 22: 459-480.
- Sutherland, J. P. 1970. Dynamics of high and low populations of the limpet, *Acmaea scabra* (Gould). *Ecological Monographs*, 40: 169-188.

- Takada, Y. 1995. Variation of growth rate with tidal level in the gastropod *Monodonta labio* on a boulder shore. *Marine Ecology Progress Series*, 117: 103-110.
- Takada, Y. 1996. Vertical migration during the life history of the intertidal gastropod *Monodonta labio* on a boulder shore. *Marine Ecology Progress Series*, 130: 117-123.
- Thrush, S. F., Schneider, D. C., Legendre, P., Whitlatch, R. B., Dayton, P. K., Hewitt, J. E., Hines, A. H., Cummings, V. J., Lawrie, S. M., Grant, J., Pridmore, R. D., Turner, S. J. y MacArdle B. H. 1997. Scaling-up from experiments to complex ecological systems: Where to next?. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 216: 243-254.
- Todgham, A., Boulding, E. y Megill, W. 1997. Wave exposure effects on the density, habitat selection and size distribution of intertidal limpets species of the Pacific coast of British Columbia, in Megill, W. M. (ed.). *Annual Scientific Report of the Coastal Ecosystems Research Foundation*. <http://cerf.bc.ca/pubs/asr97>.
- Tomanek, L. y Helmuth, B. 2002. Physiological ecology of rocky intertidal organisms: a synergy of concepts. *Integrative and Comparative Biology*, 42: 771-775.
- Turner, M. G. 1989. Landscape ecology: the effect of pattern on process. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20: 171-197.
- Tuya, F., Ramírez, R., Sánchez-Jérez, P., Haroun, R. J., González-Ramos, A. J. y Coca, J. 2006. Coastal resources exploitation can mask bottom-up mesoscale regulation of intertidal populations. *Hydrobiologia*, 553: 337-344.
- Underwood, A. J. 1997. *Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge: Cambridge University Press, p. 504.

- Underwood, A. J. 2004. Landing on one's foot: small-scale topographic features of habitat and the dispersion of juvenile intertidal gastropods. *Marine Ecology Progress Series*, 268: 173-182.
- Underwood, A. J. y Chapman, M. G. 1996. Scales of spatial patterns of distribution of intertidal invertebrates. *Oecologia*, 107: 212-224.
- Underwood, A. J. y Chapman, M. G. 1998. Spatial analyses of intertidal assemblages on sheltered rocky shores. *Australian Journal of Ecology*, 23: 138-157.
- Underwood, A. J. y Keough, M. J. 2001. Supply-side ecology: The nature and consequences of variation in recruitment on intertidal organisms, in Bertness, M., Gaines, S. D. y Hay, M. *Marine Community Ecology*. Sunderland: Sinauer Associates, p. 183-200.
- Vermeij, G. J. 1972. Intraspecific shore-level size gradients in intertidal molluscs. *Ecology*, 53: 693-700.
- Wallenstein, F. F. M. M. y Neto, A. I. 2006. Intertidal rocky shore biotopes of the Azores: a quantitative approach. *Helgoland Marine Research*, 60: 196-206.
- Walters, L. y Wethey, D. 1996. Settlement and early post-settlement survival of sessile marine invertebrates on topographically complex surfaces: the importance of refuge dimensions and adult morphology. *Marine Ecology Progress Series*, 137: 161-171.
- Wiens, J. A. 1989. Spatial scaling in ecology. *Functional Ecology*, 3: 385-397.
- Williams, G. A. y Morrill, D. 1995. Habitat partitioning and thermal tolerance in a tropical limpet, *Cellana grata*. *Marine Ecology Progress Series*, 124: 89-103.
- Wootton, J. T. 1993. Indirect effects and habitat use in an intertidal community: interactions chains and interactions modifications. *The American Naturalist*, 141: 71-89.

Wootton J. T. 2001. Local interactions predict large-scale pattern in empirically derived cellular automata. *Nature*, 413: 841-843.

Efectos potenciales del marisqueo sobre moluscos gasterópodos de interés comercial (*Osilinus* spp. y *Patella* spp.) en el Archipiélago Canario



Capítulo

2

1. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, la mayor accesibilidad a las zonas costeras las ha hecho susceptibles a una amplia variedad de impactos humanos (Thompson *et al.*, 2002). Entre estos impactos destaca la extracción de organismos (p. ej. para alimento, cebos o carnadas, muestras para acuarios, conchas para decoración, etc.), que provoca alteraciones, tanto de tipo directo como indirecto, sobre las poblaciones de la zona intermareal (Kingsford *et al.*, 1991; Adessi, 1994; Lindberg *et al.*, 1998). Así, se producen principalmente cambios en la densidad y variaciones en la estructura de tallas de las poblaciones explotadas (Hockey y Bosman, 1986; Keough *et al.*, 1993; Adessi, 1994; Lindberg *et al.*, 1998; Mannino y Thomas, 2001; Kido y Murray, 2003; Sagarin *et al.*, 2007). De hecho, los mariscadores recolectan los ejemplares más grandes ya que son más atractivos y aparentes (Hockey y Bosman, 1986; Cantos *et al.*, 1994; Lindberg *et al.*, 1998; Kido y Murray, 2003; Roy *et al.*, 2003), además de presentar un mayor valor comercial. Como consecuencia, el éxito reproductor de tales especies puede verse mermado, provocando un descenso de las poblaciones y, en último lugar, posibles fenómenos de extinción (Nuñez *et al.*, 2003; Guerra-García *et al.*, 2004).

Los recursos marisqueros han sido aprovechados en numerosas regiones costeras del planeta (Hayward y Brook, 1981; Hockey y Bosman, 1986; Mannino y Thomas, 2001; Roy *et al.*, 2003). Por ejemplo, las costas rocosas de la región macaronésica (Azores, Madeira, Islas Canarias e Islas de Cabo Verde) han sido explotadas desde épocas prehistóricas por los primeros pobladores pre-hispánicos (Hawkins *et al.*, 2000; Batista, 2001; Ferraz *et al.*, 2001). Los organismos recolectados constituían un suplemento de comida (fuente de proteínas) o eran utilizados como moneda de cambio con otros productos (Batista, 2001; Ferraz *et al.*, 2001; Cabrera y Cabrera, 2004). Desde

la conquista de las islas (siglo XV) hasta la época actual, esta actividad se ha seguido practicando a nivel recreativo, pero también a nivel profesional; es decir, los organismos capturados son vendidos para obtener un beneficio económico (Ferraz *et al.*, 2001; Cabrera y Cabrera, 2004; Navarro *et al.*, 2005). La existencia de multitud de concheros repartidos por todas las islas confirma esta explotación a lo largo del tiempo (Batista, 2001; Fig. 1). Sin embargo, la recolección de recursos marisqueros es mayor en la actualidad que en épocas pasadas, debido tanto al incremento de personas que los consumen como aquellas que los recolectan para su venta. Así, las poblaciones de algunos organismos (p. ej. lapas) de la zona costera han disminuido notablemente su abundancia (Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005) y, en casos extremos (p. ej. *Patella candei* Orbigny, 1840), han llegado al borde de la extinción (Nuñez *et al.*, 2003).



Figura 1. Concheros modernos (fotografía de la izq.) y antiguos (fotografía de la dcha.) atestiguan el continuo marisqueo ocurrido en Canarias.

Aunque algunos trabajos han descrito en qué estado de conservación se encuentran las poblaciones de determinados recursos marisqueros en el Archipiélago Canario (p. ej. Nuñez *et al.*, 1994), existen escasos estudios que cuantifiquen con un

diseño experimental adecuados cuales son los efectos de la acción humana (Nuñez *et al.*, 2003; Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005). El objetivo de este estudio fue, por tanto, determinar el efecto de la influencia humana sobre las poblaciones de ciertos recursos marisqueros de las costas rocosas del Archipiélago Canario. Específicamente, se estudiaron los cambios en la abundancia y estructura de talla de 5 moluscos gasterópodos en áreas sujetas a diferente influencia humana, cuantificada no sólo a través de la explotación directa de los recursos marisqueros, sino utilizando otros indicadores relacionados con ésta, como la presión (o densidad) y accesibilidad poblacional sobre la costa. Se supone que en áreas sujetas a una alta influencia humana, las especies presentan alteraciones poblacionales (p. ej. disminución de abundancia y talla) respecto a áreas sometidas a menor influencia.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Área de estudio y diseño muestral

Este trabajo se llevó a cabo en la isla de Lanzarote (L) y en los islotes adyacentes de La Graciosa (LG) y Alegranza (AG); los últimos están situados en la zona geográfica denominada “Archipiélago Chinijo” (Fig. 2). En cada isla se seleccionaron 2 localidades de 10s de m de extensión, separadas desde 1 hasta 10s de km. Todas las localidades estaban constituidas por plataformas rocosas basálticas (origen volcánico) expuestas directamente al oleaje, que dominaba en frecuencia desde el norte (Tabla 1). Los muestreos se realizaron en la zona intermareal entre septiembre y octubre de 2004, aprovechando el régimen máximo de mareas durante esta época del año (0-3 m). En general, en la zona intermareal canaria se pueden diferenciar tres zonas (alta, media y baja) según los esquemas de zonación clásicos (Stephenson y Stephenson, 1949). La zona intermareal alta se caracteriza por la presencia de algas verde-azules

(cianobacterias) como *Calothrix crustacea*; la zona media está dominada por el crustáceo cirrípedo *Chthamalus stellatus*; y la zona baja está cubierta por céspedes de macroalgas, principalmente algas rojas y pardas (Ramírez *et al.*, 2008).

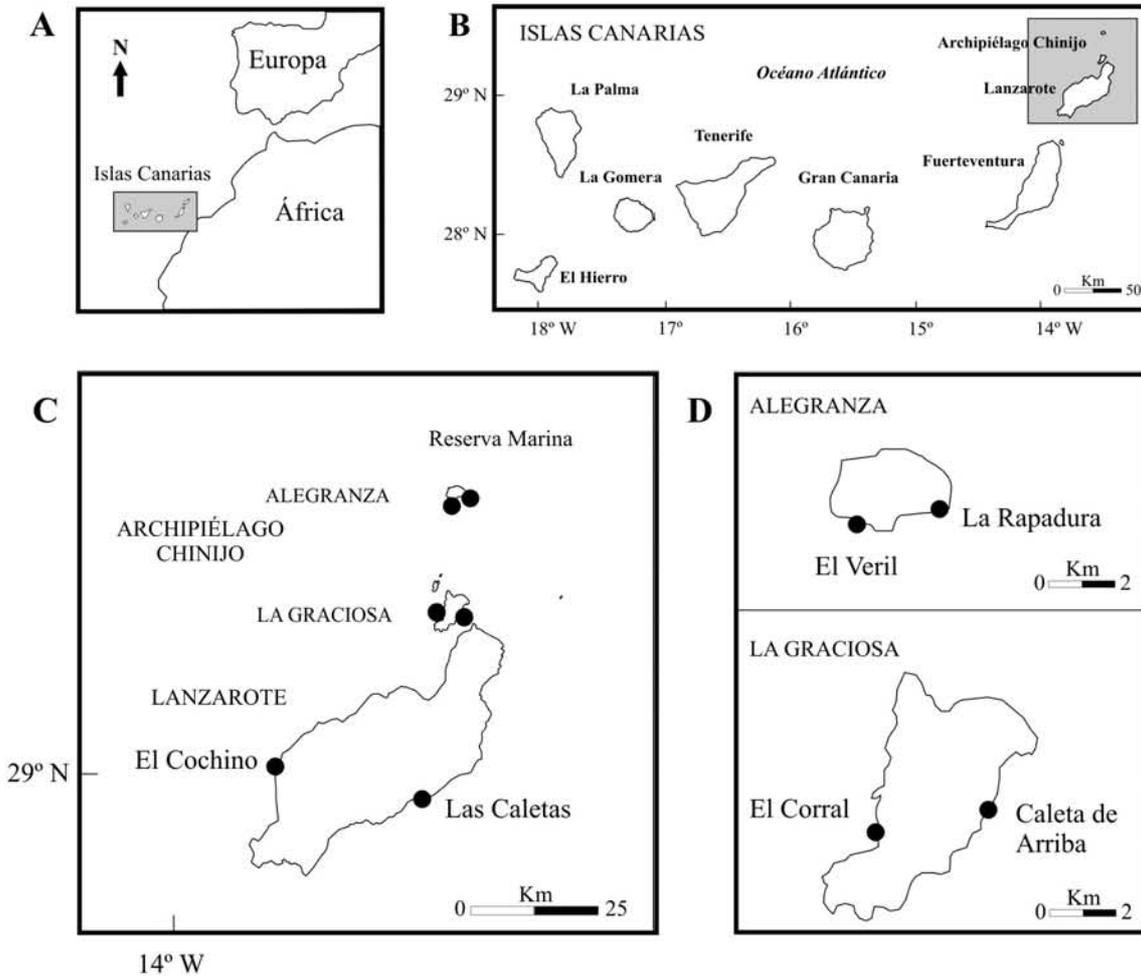


Figura. 2. Área de estudio. **A:** Posición del Archipiélago Canario respecto del continente africano y europeo. **B:** Posición de la zona de estudio en el extremo oriental del Archipiélago. **C:** Posición de las localidades de muestreo (●) en Lanzarote, La Graciosa y Alegranza (el cuadrado gris indica el área de reserva marina). **D:** detalle de las localidades muestreadas en Alegranza y La Graciosa.

El diseño muestral incluyó, por tanto, 3 islas (L, LG y AG) correspondientes a tres categorías de influencia humana: alta, media y baja, respectivamente (Tabla 2). Para cuantificar dicha influencia humana se utilizaron los siguientes indicadores: (1) presión

humana sobre la costa, la cual se refirió al número de habitantes por km de perímetro costero y día (para su cálculo se usaron tanto el número de habitantes locales como los turistas foráneos); (2) accesibilidad a las zonas costeras, la cual se refirió al nº de km de carreteras y caminos accesibles a los vehículos; y (3) explotación marisquera, que se refirió a los volúmenes (kg) de captura realizados por mariscadores profesionales (sólo se dispusieron de volúmenes totales para lapas, *Patella* spp., en el año 2008).

Tabla 1. Características de las localidades estudiadas. *: Sin población.

| Isla | Localidad | Extensión (m) | Orientación | Inclinación | Distancia a población (Km)/acceso rodado (m) |
|-------------|------------------|---------------|-------------|-------------|--|
| Lanzarote | Las Caletas | 54 | SE 163° | < 45° | 0 / 0 |
| | El Cochino | 93 | NW 310° | < 45° | 7 / 5000 |
| La Graciosa | Caleta de Arriba | 60 | SE 140° | < 45° | 3 / 0 |
| | El Corral | 89 | NW 330° | < 45° | 5 / 0 |
| Alegranza | El Veril | 40 | SE 150° | < 45° | */0 |
| | La Rapadura | 36 | NE 80° | < 45° | */0 |

Tabla 2. Estimación de los indicadores de influencia humana para las tres islas estudiadas. Fuentes: Instituto Canario de Estadística (ISTAC), Fernández-Palacios y Martín (2001), Cabrera y Cabrera (2004), Viceconsejería de Agricultura, Ganadería y Pesca (Gobierno de Canarias), Centro de datos (Cabildo de Lanzarote) y estimaciones propias.

| Isla/Influencia humana | Km de costa | nº de habitantes (2004) | nº de turistas (2004) | hab Km ⁻¹ d ⁻¹ | Km de red viaria | Kg de captura (2008) |
|------------------------|-------------|-------------------------|-----------------------|--------------------------------------|------------------|----------------------|
| Lanzarote/Alta | 213.26 | 116.782 | 1.770.176 | 569.4 | 457 | 675.6 |
| La Graciosa/Media | 28 | 600 | 10.000 | 22.40 | 25 | 525 |
| Alegranza/Baja | 14 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

2.2 Especies estudiadas y método de muestreo

Se consideraron 5 especies de moluscos gasterópodos con interés marisquero, 2 especies de tróquidos: *Osilinus atrata* (Wood, 1823) y *Osilinus sauciatus* (Koch, 1845), también denominados localmente como “burgado hembra” y “macho”, respectivamente; y 3 especies de lapas: *Patella aspera* (Röding, 1798), *Patella candei crenata* (Orbigny, 1840) y *Patella rustica* (Linnaeus, 1758), denominadas comúnmente, “lapa blanca”, “lapa negra” y “lapa curvina” o “de sol”, correspondientemente.

La abundancia de los organismos se cuantificó mediante el uso de unidades de muestreo (cuadrados de 50 x 50 cm; 0.25 m²) distribuidas al azar sobre el sustrato, siguiendo así el método empleado previamente para el conjunto del Archipiélago Canario (Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005), que también ha sido utilizado y reconocido como eficaz por otros autores para este tipo de trabajos (p. ej. Cantos *et al.*, 1994; Milazzo y Ramos-Esplá, 2000; Kido y Murray, 2003). En cada localidad, se colocaron al azar n = 90 cuadrados, separados desde 1 hasta 10s de m, distribuyéndose en las tres zonas intermareales (alta, media y baja) de manera equitativa (n = 30 por zona). Dentro de cada cuadrado se contaron y midieron (precisión hasta mm) mediante el uso de calibradores Vernier todos los individuos. Se midió la distancia desde el ápice hasta la base de la columbela para las especies de burgados (*Osilinus* spp.) y la longitud total de la apertura de la concha para las tres especies de lapas (*Patella* spp.).

2.3 Análisis de datos

Para contrastar las diferencias en abundancia entre islas, y por tanto entre categorías de influencia humana, para cada una de las especies consideradas, se ejecutaron ANOVAs, que incluyeron los factores: (1) isla (factor fijo, con 3 niveles) y

(2) localidad (factor aleatorio y anidado en el factor isla, con 2 niveles). En aquellos casos donde la homogeneidad de las varianzas (test de Cochran) no se verificó a pesar de la transformación de los datos, procedimos a fijar un nivel de confianza (α) más pequeño, y por tanto más conservador (Underwood, 1997). Las diferencias entre islas se determinaron, en aquellos casos apropiados, mediante contrastes *a posteriori* con un test SNK.

Para definir la estructura poblacional de cada especie se obtuvo un diagrama de talla para la totalidad de los individuos de cada isla. Los rangos de talla se establecieron en intervalos de 3 mm para las especies de burgados y de 5 mm para las de lapas (Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005). Para contrastar las diferencias en las distribuciones de frecuencias de tallas entre islas, es decir categorías de influencia humana, se emplearon tablas de contingencia, que contrastaron las diferencias a través del estadístico χ^2 .

3. RESULTADOS

3.1 Burgados (*Osilinus spp.*)

Se registraron un total de 835 ejemplares de *Osilinus atrata* para todo el estudio, de los cuales aproximadamente un 74 % se encontraron en AG, un 21 % en LG y un 5 % en L. Así, detectamos diferencias significativas para la abundancia entre islas (Tabla 3); la abundancia fue superior en la isla de AG respecto a LG y L (Test SNK, $0,01 < p < 0,05$; Fig. 3), que no mostraron diferencias significativas entre ellas. Por otro lado, se encontraron 82 individuos de *Osilinus sauciatus* repartidos equitativamente entre L (50 %) y LG (50 %); no se encontró ningún ejemplar en AG. Sin embargo, no detectamos

diferencias significativas entre islas, pero si entre localidades tanto para LG (Test SNK, $0,01 < p < 0,05$) como para L (Test SNK, $p < 0,01$) (Tabla 3, Fig. 3).

Tabla 3. Resultados del ANOVA contrastando las diferencias de abundancia para *Osilinus atrata*, *Osilinus sauciatus*, *Patella aspera*, *Patella candei crenata* y *Patella rustica* entre islas y localidades. gl: grados de libertad; Cm: suma de cuadrados medios; F: valor del estadístico de Fisher. Nivel de significación: * $0.01 < p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

| Fuente de variación | gl | <i>O. atrata</i> | | <i>O. sauciatus</i> | | <i>P. aspera</i> | | <i>P. c. crenata</i> | | <i>P. rustica</i> | |
|----------------------|-----|------------------|--------------|---------------------|--------------|------------------|----------------|----------------------|---------------|-------------------|--------------|
| | | Cm | F | Cm | F | Cm | F | Cm | F | Cm | F |
| Test de Cochran | | C = 0.51** | | C = 0.57** | | C = 0.68** | | C = 0.75** | | C = 0.57** | |
| Isla = Is | 2 | 8540.11 | 9.72* | 48.62 | 0.80 | 1127.02 | 32.88** | 928.35 | 5.15 | 475.05 | 3.27 |
| Localidad = Loc (Is) | 3 | 878.37 | 2.66* | 60.59 | 4.13* | 34.28 | 0.53 | 180.26 | 4.19** | 145.45 | 2.77* |
| Residual | 534 | 330.79 | | 14.66 | | 65.12 | | 43.03 | | 52.41 | |

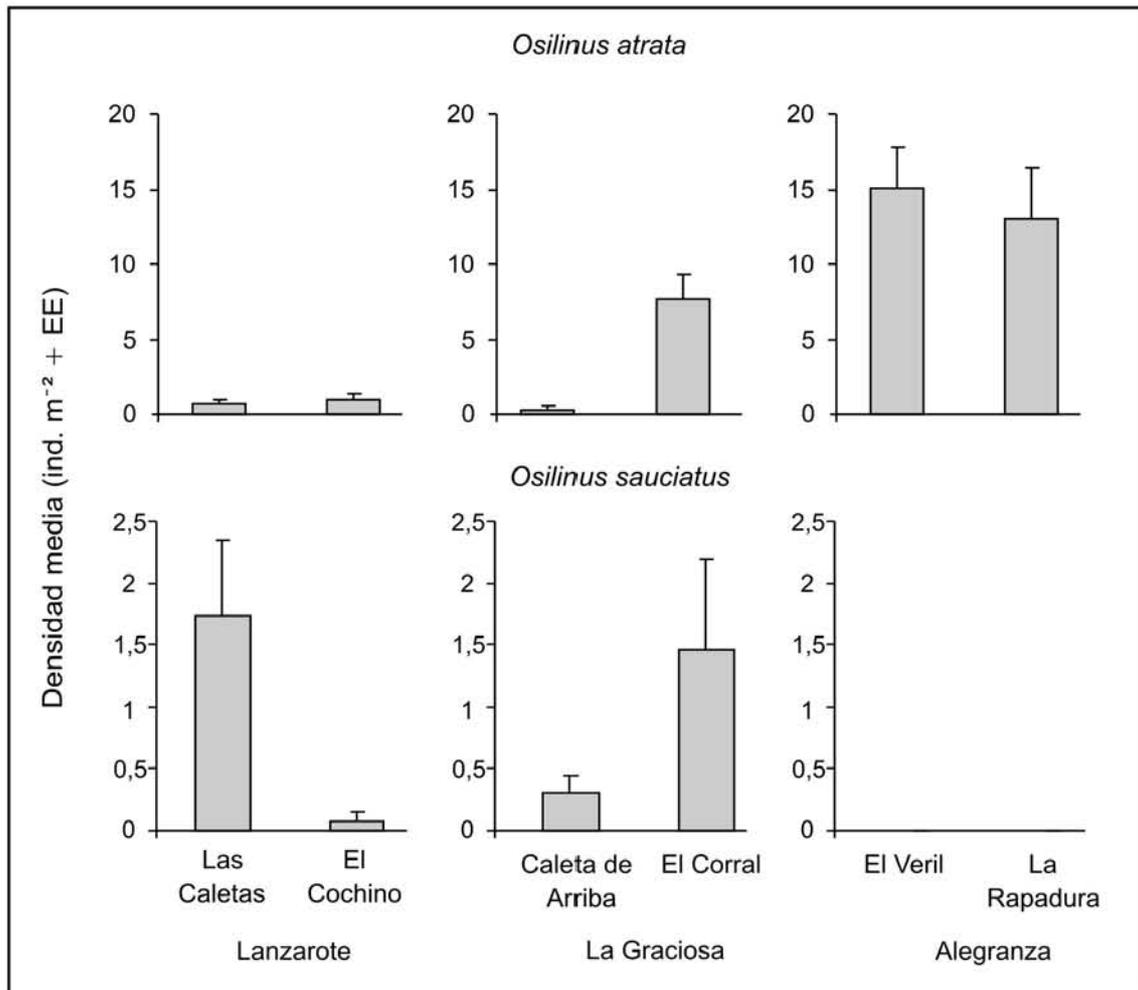


Figura. 3. Densidad media por localidad de *Osilinus atrata* y *Osilinus sauciatus*. E.E.: error estándar.

El rango de tallas de *Osilinus atrata* osciló entre los 4 y los 27 mm. La distribución de tallas fue unimodal en la isla de AG, con el rango de tallas 10-12 mm como el más frecuente (Fig. 4). En LG la distribución de tallas también fue unimodal, aunque mostró una frecuencia similar para los rangos de talla 13-15 mm (el más frecuente) y 10-12 mm (Fig. 4). Mientras, la distribución de tallas en L mostró varios rangos de tallas con frecuencias iguales o similares (Fig. 4). Se encontraron diferencias significativas para la estructura de talla de *O. atrata* entre islas, y por tanto entre los distintos niveles de influencia humana (Tabla 4). Para *Osilinus sauciatus*, el rango de tallas osciló entre los 5 y los 26 mm. En L la distribución de tallas fue unimodal, con el rango de talla 10-12 mm como el más frecuente. En LG, *O. sauciatus* mostró una

población estructurada en torno a dos clases de talla, que fueron: 7-9 mm (la más frecuente) y 16-18 mm (Fig. 4). La distribución para ambas islas presentó asimetría positiva, mostrando una cola prolongada en donde se situaron los ejemplares de mayor talla, que fueron los menos abundantes (Fig. 4). Detectamos diferencias significativas en la estructura de tallas de *O. sauciatus* entre AG y LG y AG y L, pero no entre LG y L (Tabla 4).

Tabla 4. Valores del estadístico χ^2 para la comparación de la estructura de tallas de cada especie entre islas (=niveles de influencia humana). gl: grados de libertad. Nivel de significación: *p < 0.01.

| | gl | AG-LG | LG-L | AG-L |
|--------------------------|----|---------|---------|---------|
| <i>O. atrata</i> | 9 | 1752.8* | 1006.5* | 1023.0* |
| <i>O. sauciatus</i> | 9 | 41.0* | 13.5 ns | 41.0* |
| <i>P. aspera</i> | 11 | 1946.3* | 6.0 ns | 4007.3* |
| <i>P. candei crenata</i> | 11 | 4000.0* | 2.00 ns | 3796.0* |
| <i>P. rustica</i> | 11 | 791.5* | 33.9* | 289.1* |

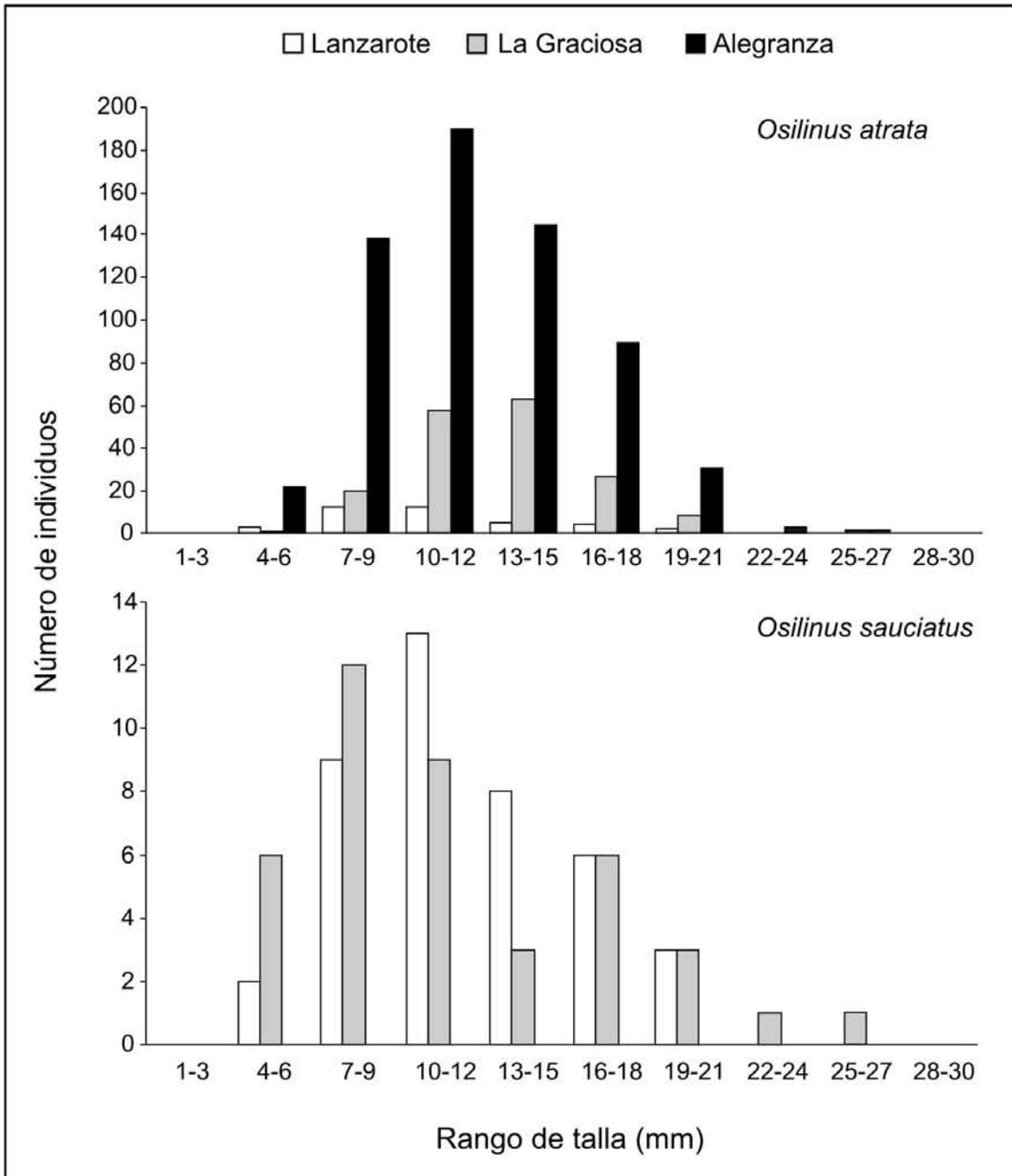


Fig. 4. Diagrama de frecuencia de tallas para *Osilinus atrata* y *Osilinus sauciatus*.

3.2 Lapas (*Patella* spp.)

Se registraron un total de 222 ejemplares de *Patella aspera*, 179 de *Patella candei crenata* y 185 de *Patella rustica*, de los cuales un 95, 99 y 74 % se encontraron en AG, respectivamente. Igualmente, un 23 % de los ejemplares de *P. rustica* fueron hallados en la isla de L. Se detectaron diferencias significativas entre islas para *P.*

aspera, la cual fue más abundante en AG que en LG (Test SNK, $0,01 < p < 0,05$) y L (Test SNK, $p < 0,01$) (Tabla 3); no se registraron diferencias significativas en LG y L. Sin embargo, tanto para *P. candei crenata* (Test SNK, $p < 0,01$) como para *P. rustica* (Test SNK, $0,01 < p < 0,05$) se observó una alta variabilidad entre localidades dentro de cada isla, que posiblemente obscureció la detección de diferencias entre islas (Tabla 3; Fig. 5).

Los rangos de talla oscilaron de la siguiente manera: *Patella aspera* (8-49 mm), *Patella candei crenata* (12-54 mm) y *Patella rustica* (3-49 mm). La distribución de tallas de *P. aspera* y *P. candei crenata* no pudo ser definida en L y LG debido a la escasez de ejemplares registrados (Fig. 6). En AG, en cambio, *P. aspera* mostró una distribución con varias clases de talla (entre 16 y 35 mm) con similares frecuencias y *P. candei crenata* una distribución unimodal, siendo el rango de talla 36-40 mm como el más frecuente (Fig. 6). Por otro lado, la distribución de talla de *P. rustica* en L y AG fue unimodal, con el rango de talla 16-20 mm como el más frecuente en ambos casos, y con asimetría positiva (Fig. 6). Los ejemplares registrados en LG no fueron suficientes para definir la distribución de tallas en dicha isla. Se encontraron diferencias significativas para la estructura de tallas de *P. rustica* entre islas; es decir, entre los niveles de influencia humana (Tabla 4). Para *P. aspera* y *P. candei crenata* no se encontraron diferencias significativas entre LG y L, pero sí para el resto de comparaciones (Tabla 4).

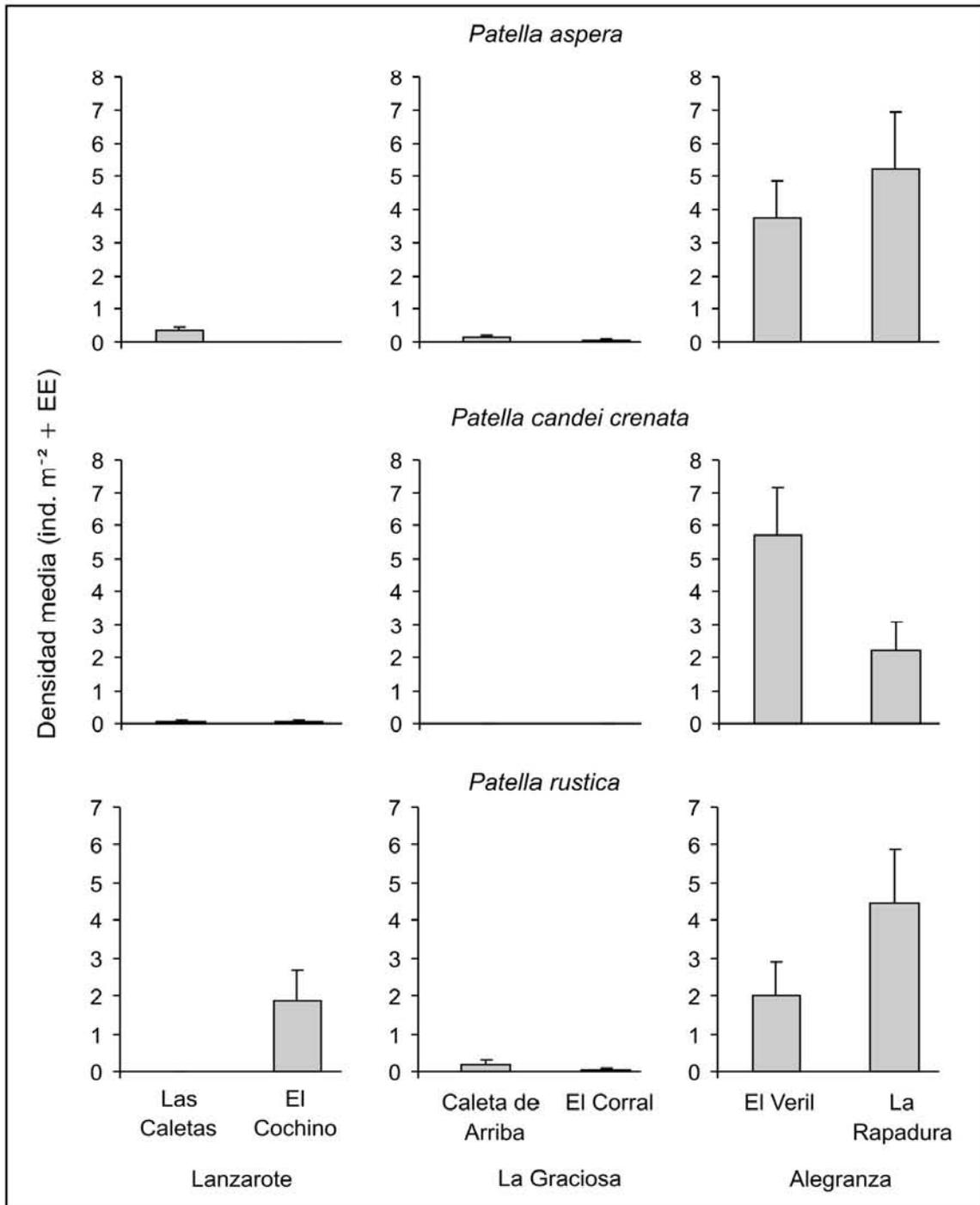


Figura. 5. Densidad media por localidad de *Patella aspera*, *Patella candei crenata* y *Patella rustica*.

E.E.: error estándar.

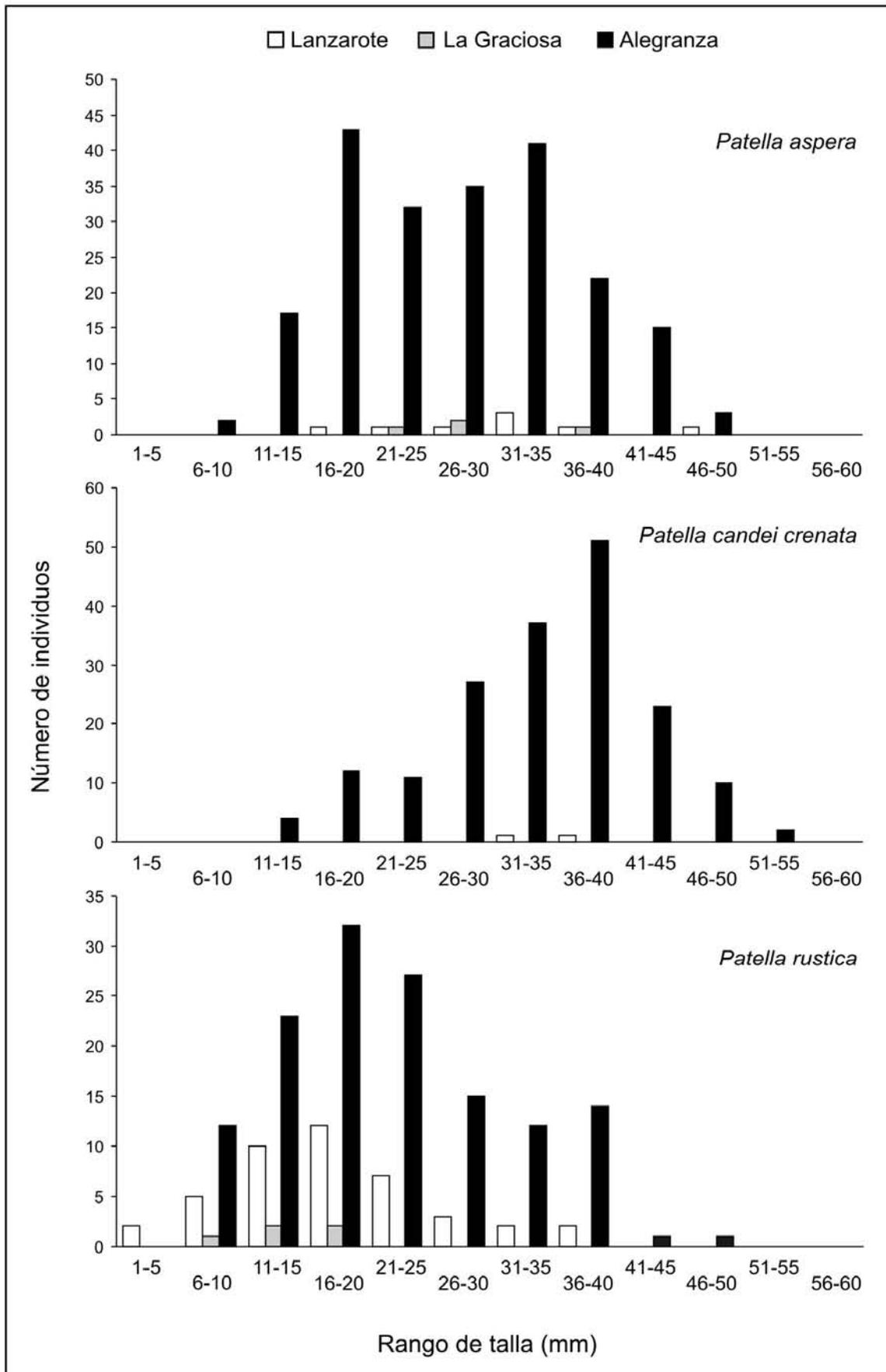


Figura. 6. Diagrama de frecuencia de tallas para *Patella aspera*, *Patella candei crenata* y *Patella rustica*.

4. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio sugieren que la influencia humana afecta negativamente a las poblaciones de moluscos gasterópodos de interés marisquero en el Archipiélago Canario. Como se suponía, las especies presentes en áreas sujetas a una influencia humana media o alta presentaron alteraciones poblacionales respecto a áreas sometidas a menor influencia. Así, y como se ha indicado en diversos estudios (p. ej. Hockey y Bosman, 1986; Keough *et al.*, 1993; Lindberg *et al.*, 1998; Roy *et al.*, 2003; Sagarin *et al.*, 2007), la explotación ejercida por el hombre en el Archipiélago Canario ha provocado una disminución de la densidad de las poblaciones y una alteración de la estructura de talla, debido principalmente a la selección de los ejemplares más grandes (Fig. 7). Aunque estadísticamente sólo *Osilinus atrata* y *Patella aspera* presentaron diferencias significativas entre las islas (=niveles de influencia humana), la abundancia para 4 de las 5 especies estudiadas fue mucho mayor en AG (nivel bajo) respecto a LG (nivel medio) y L (nivel alto).



Figura 7. Las marcas que quedan en la superficie de las rocas al extraer una lapa (fotografía de la izq.) son muy frecuentes en zonas con fuerte presión marisquera. Las lapas recolectadas (p. ej. lapas blancas) son mayoritariamente vendidas a restaurantes de comida canaria, que las ofrecen como un plato típico (fotografía de la dcha.).

En L, la zona costera está sometida a una alta presión humana, tanto de locales como de turistas, quienes pueden, al mismo tiempo, mariscar y generar una mayor demanda de productos marisqueros. Además, existen numerosas vías de acceso a la costa lo que facilita la actividad de los mariscadores, quienes pueden ahorrar tiempo y energía. Por ejemplo, Adessi (1994) registró para una zona costera de San Diego (California, USA) que las personas se concentraban cerca de los accesos públicos, lo que resultaba en una mayor perturbación sobre las poblaciones intermareales. No obstante, existen lugares (p. ej. varias localidades costeras en California o la localidad denominada “El Cochino” en este estudio) en los que, a pesar de la lejanía a los accesos públicos, se producen amplias capturas (Sagarin *et al.*, 2007; observación personal). Otros aspectos que facilitan el marisqueo en la zona costera de L son la ausencia de barreras físicas (exceptuando “El Cochino”) y geológicas (p. ej. acantilados abruptos) o patrullas de vigilancia. En definitiva, en L se extrae un gran volumen de capturas lo que ha provocado la observación de poblaciones poco densas de burgados y lapas. Aunque no se dispone de volúmenes de captura para los burgados, las observaciones personales sobre el terreno indican extracciones tan extensas como las de lapas. En este sentido, se supone que el volumen de extracción es mucho mayor al registrado, debido a que la mayoría de las capturas se realizan ilegalmente; es decir, los mariscadores superan los límites de frecuencia y volúmenes de captura establecidos por las autoridades (BOC, Ley 17/2003, de 10 de abril, de Pesca de Canarias; BOC, Orden de 14 de abril de 2008 por la que se regula temporalmente el marisqueo profesional a pie). El marisqueo ilegal está ampliamente extendido en el Archipiélago Canario, en donde existe una fuerte demanda de productos marisqueros (p. ej. lapas), que es aprovechada por los mariscadores para vender sus capturas y obtener así un ingreso superior de recursos económicos (Fig. 7).

En el caso de LG, a pesar de estar sometida a una menor influencia humana (nivel medio), el volumen de capturas fue similar a L. Así, las especies de burgados y lapas mostraron igualmente poblaciones poco densas. Para LG se esperaba una menor recolección debido a las limitaciones físicas más extremas (p. ej. ausencia de carreteras asfaltadas) o a las restricciones obligatorias sobre el marisqueo (p. ej. área de Reserva Marina, patrullas de vigilancia, etc.). Sobre este resultado ha podido influir el hecho de que, desde el poblamiento de la isla en el año 1875, las actividades pesqueras - incluyendo el marisqueo- han sido de forma casi exclusiva el medio de subsistencia, ya que la agricultura y la ganadería son casi impracticables debido a las malas condiciones climatológicas y geológicas de la isla (Cabrera, 1995; Cabrera y Cabrera, 2004; Leal, 2004). Igualmente, a pesar de que en las últimas décadas se ha desarrollado la actividad turística en la isla y ha descendido la actividad pesquera (Cabrera y Cabrera, 2004), la actividad marisquera no ha cesado sino que, posiblemente, ha aumentado al convertirse en un negocio lucrativo; los recursos marisqueros capturados son vendidos en los múltiples establecimientos de restauración tanto de LG como en la isla vecina de L.

Los valores de densidad registrados en AG fueron, en cambio, de 10 a 15 veces superiores a los encontrados en LG y L (Fig. 8). Este resultado parece mostrar que la baja influencia humana (casi inexistente) en AG es la causa del buen estado de conservación de las poblaciones de burgados y lapas. La isla de AG está deshabitada, posee extremas restricciones físicas para el acceso (p. ej. isla alejada a una distancia > 11 millas náuticas de LG y L, ausencia de puerto y red viaria, etc.), restricciones legales sobre el marisqueo (p. ej. área de Reserva Marina, patrullas de vigilancia, etc.) e incluso es necesario un permiso de la autoridad local (Cabildo de Lanzarote) para el acceso a la isla. En Canarias, existen otros ejemplos de áreas de acceso restringido a la

población (p. ej. zonas militares), o sobre las cuales se imponen temporalmente estrictas condiciones de vigilancia y prohibiciones de captura (p. ej. isla de Fuerteventura), en donde se han encontrado las poblaciones más densas de *Patella aspera* (Navarro *et al.*, 2005; Ramírez y Haroun, 2006).



Figura 8. La densidad de lapas (*Patella aspera* en la fotografía) encontrada en AG es la más alta del Archipiélago Canario (R. Ramírez, datos sin publicar).

Por otra parte, la ausencia de *Osilinus sauciatus* en AG en este estudio pudo estar relacionada con su gran variabilidad espacial, que se relaciona con sus preferencias de hábitat y las características de las costas rocosas (Ramírez *et al.*, 2005). Este tróquido parece preferir plataformas rocosas de poca pendiente y gran extensión. En este caso, todas las plataformas analizadas mostraron pendientes similares, pero las situadas en AG fueron de menor longitud que las ubicadas en LG y L, lo que pudo influir en nuestro resultado. El efecto de la variabilidad natural sobre la distribución de *O. sauciatus* parece un caso particular en comparación con el resto de especies, ya que ésta presenta, además, una distribución limitada a determinadas islas del Archipiélago Canario (Ramírez *et al.*, 2005), y no así el resto, las cuales se distribuyen ampliamente por todas las islas (Ramírez *et al.*, 2008). Posiblemente, el incremento en la replicación

espacial de este estudio (p. ej. mayor número de localidades estudiadas) podría haber mostrado diferentes patrones.

Los resultados mostraron diferencias significativas entre las estructura de tallas de todas las especies registradas en AG y aquellas detectadas en LG y L. En estas dos últimas islas, las poblaciones de burgados y lapas no sólo mostraron una desaparición de los ejemplares de mayor talla, como se ha observado de manera general para todo el Archipiélago (Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005) o en otras áreas geográficas con especies similares (p. ej. Keough *et al.*, 1993; Ferraz *et al.*, 2001; Roy *et al.*, 2003; Branch y Odendaal, 2003; Sagarin *et al.*, 2007), sino una disminución de ejemplares para la mayoría de los rangos de talla. Esta observación puede mostrar un fenómeno de sobreexplotación de las poblaciones, el cual puede estar afectando al éxito reproductor de las diferentes especies. Por ejemplo, se sabe que algunas especies (p. ej. *Patella aspera*) son hermafroditas protándricas, y por tanto, la desaparición de los ejemplares adultos (los de mayor tamaño y con mayores gónadas) provocaría grandes desviaciones de un sex ratio ideal 1:1 (Peña, 1996; Hawkins *et al.*, 2000; Delany *et al.*, 2002; Branch y Odendaal, 2003). Además, *Osilinus* spp. y *Patella rustica* no poseen poblaciones submareales que sirvan de refugio y que soporten el reclutamiento posterior de las poblaciones situadas en la zona intermareal.

Por otro lado, las diferentes especies analizadas mostraron en AG poblaciones bien estructuradas, con numerosos ejemplares de gran talla. Aunque en algunas ocasiones (principalmente en verano, debido al buen estado climatológico y de la mar), se producen episodios de marisqueo ilegal, éstos no parecen haber sido suficientes para alterar la estructura de talla de las poblaciones; ni siquiera, parecen haber provocado la

estructura de talla presentada por *Patella rustica*, la cual mostró una estructura de talla desplazada hacia los ejemplares de menor talla. La estructura de talla de esta especie en AG parece ser el patrón natural y no así en LG y L (ver comentarios arriba), en donde es recolectada por los mariscadores para consumo propio cuando no encuentran las otras dos especies (observación personal). En AG también se observó que los ejemplares de menor talla (reclutas) eran escasos o inexistentes para todas las especies. Esto ha sido igualmente registrado para otras especies de lapas (Cantos *et al.*, 1994; Branch y Odendaal, 2003) u otros moluscos gasterópodos (Edgar y Barret, 1999) para zonas sometidas a diferente presión humana, como por ejemplo en áreas marinas protegidas. En esos casos se sugirió que dicho patrón respondía a dos posibles explicaciones: (1) competición entre ejemplares grandes y pequeños e (2) incremento de la predación sobre los ejemplares pequeños debido al aumento de predadores dentro del área marina protegida. En nuestro caso, son necesarios más estudios para contrastar tales causas; de hecho, para detectar cambios entre hábitats perturbados y no perturbados por la acción humana se sugieren muestreos regulares en el tiempo (Adessi, 1994).

La variabilidad natural (p. ej. variabilidad espacial) para las especies de burgados y lapas es notable para todo el Archipiélago Canario (Navarro *et al.*, 2005, Ramírez *et al.*, 2005), así como para otras especies muy relacionadas con éstas (p. ej. Ramírez *et al.*, 2009). Aún así, dicha variabilidad no parece ser suficiente para explicar las grandes discrepancias registradas entre islas para la abundancia y la estructura de talla en este estudio. Los múltiples impactos producidas por el hombre sobre las poblaciones naturales (principalmente la extracción no regulada, poco selectiva y prolongada en el tiempo), parecen ser las causas más importantes para generar las alteraciones observadas. Por ejemplo, Tuya *et al.* (2006a) apuntaron que la explotación

por parte de los humanos podía enmascarar la regulación producida por procesos “bottom-up” para las poblaciones intermareales. Igualmente, Ramírez *et al.* (2008) señalaron que las perturbaciones producidas por el hombre podían influir sobre los patrones de distribución espacial (sobre la abundancia y la talla) del molusco predador *Stramonita haemastoma*. Más aún, la extinción del ostrero unicolor (*Haematopus meadewaldoi*), presente en el área de este estudio hasta mediados del siglo XX (p. ej. Moreno, 1988; de Juana y Varela, 2000), parece estar relacionada con la actividad humana. Ambos competirían por el mismo alimento (p. ej. lapas) pero diferenciándose en que los humanos pueden seleccionar ejemplares de gran talla no accesibles para las aves. En otras áreas geográficas donde existen actualmente ostreros se ha observado: (1) un desplazamiento de los ostreros por los humanos en aquellas zonas frecuentadas por los segundos (Lindberg *et al.*, 1998), y (2) la existencia de lapas de gran talla incluso en donde los ostreros son comunes (Sagarin *et al.*, 2007).

En conclusión, los resultados obtenidos plantean serias dudas sobre la efectividad de las regulaciones emanadas de la Ley de Pesca de Canarias y de la Reserva Marina de Interés Pesquero “Isla de La Graciosa e Islotes al Norte de Lanzarote”, dentro de la cual se sitúan LG y AG, debido a la escasa aplicación de las normas sobre el marisqueo y sus medidas de vigilancia. La citada Ley regula, desde el año 2003, las actividades marisqueras en todo el Archipiélago, limitando la frecuencia, el área de desarrollo de la actividad y el volumen y distribución (venta) de las capturas. Además, y dentro de la Reserva Marina de Interés Pesquero, se regula y limita, desde el año 1995, la actividad marisquera. Esta observación concuerda, de cierta forma, con lo apuntado por varios autores, que también han considerado que el estatus legal de una zona, como las reservas marinas, son insuficientes cuando no hay una adecuada

aplicación de las leyes (p. ej. Allison *et al.*, 1998; Boersma y Parrish, 1999; Murray *et al.*, 1999; Sagarin *et al.*, 2007). En reservas marinas con un nivel de vigilancia adecuado se ha observado que sus efectos beneficiosos pueden producirse en cortos períodos de tiempo (1-3 años) desde su declaración (p. ej. Durán y Castilla, 1989; Halpern y Warner, 2002). En este caso, este periodo ha sido superado ampliamente (14 años de antigüedad). Por tanto, y a pesar de que no existen datos previos a la creación de este espacio protegido para contrastar las diferencias en abundancia y talla de los recursos estudiados, todo indica a que los bajos valores de abundancia y talla en la isla de LG están fuertemente influenciados por la ineficacia de las medidas de vigilancia dentro de la mencionada Reserva Marina de Interés Pesquero.

5. REFERENCIAS

- Addessi, L. 1994. Human disturbance and long-term changes on rocky intertidal community. *Ecological Applications*, 4: 786-797.
- Allison, G. W., Lubchenco, J. y Carr, M. H. 1998. Marine reserves are necessary but not sufficient for marine conservation. *Ecological Applications*, 8: 79-92.
- Batista, C. 2001. El marisqueo en la prehistoria de Gran Canaria. *Vector plus*, 18: 67-76.
- Boersma, P. D. y Parrish, J. K. 1999. Limiting abuse: marine protected areas, a limited solution. *Ecological Economics*, 31: 287-304.
- BOC. Ley 17/2003, de 10 de abril, de Pesca de Canarias. num. 77: 6123-6145.
- BOC. Orden de 14 de abril de 2008 por la que se regula temporalmente el marisqueo profesional a pie, para la recolección de lapas. num. 79: 6968-6969.
- Branch, G. M. y Odendaal F. 2003. The effects of marine protected areas on the population dynamics of a South African limpet, *Cymbula oculus*, relative to the influence of wave action. *Biological Conservation* 114: 255-269.
- Cabrera, G. 1995. Del mito del dominio masculino o del matriarcado encubierto: las transformaciones de la familia y su influencia en un contexto insular canario (isla de La Graciosa), en *VI Jornadas de Estudios sobre Lanzarote y Fuerteventura*. Arrecife: Cabildo Insular de Lanzarote y Cabildo Insular de Fuerteventura, p. 651-656.
- Cabrera, G. y Cabrera, A. 2004. Turismo versus pesca artesanal. A propósito de La Reserva Marina de la Isla de La Graciosa y los Islotes del Norte de Lanzarote. *Pasos*, 2: 1-16.
- Cantos, R., Mazón, P., Paredes, M. D., Picó, M. L., Sales, E. y Sánchez-Jerez, P. 1994. Aportación al conocimiento de las poblaciones de *Patella caerulea* y *P.*

- aspera* en la reserva marina de Tabarca (Alicante): densidad poblacional y frecuencia de tallas según el tipo de sustrato y grado de presión antrópica, en Ramos, A. *Trabajos de campo en la reserva marina de Tabarca*. Alicante: Universitat de Alicante - Instituto de Ecología Litoral, p. 45-52.
- Delany, J., McGrath, D., O'Riordan, R. y Myers, A. 2002. Reproduction in the intertidal limpets *Patella vulgata* and *Patella ulyssiponensis*, en Myers A. (ed). *New Survey of Clare Island. Marine Intertidal Ecology*. Vol. 3. Dublín: Royal Irish Academy, p. 91-116.
- de Juana, E. y Varela, J. M. 2000. *Guía de las aves de España. Península, Baleares y Canarias*. Barcelona: Lynx Ediciones, p. 223.
- Durán, L. R. y Castilla, J. C. 1989. Variation and persistence of the middle rocky intertidal community of central Chile, with and without human harvesting. *Marine Biology*, 103: 555-562.
- Edgar, G. J. y Barret, N. S. 1999. Effects of the declaration of marine reserves on Tasmanian reef fishes, invertebrates and plants. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 242: 107-144.
- Ferraz, R. R., Menezes, G. M. y Santos, R. S. 2001. Limpet (*Patella* spp.) (Mollusca: Gastropoda) exploitation in the Azores, during the period 1993-1998. *Arquipélago-Life and Marine Sciences*, Suppl. 2, Part B: 59-65.
- Fernández-Palacios J. M. y Martín, J. 2001. Las islas como experimento de laboratorio, en Fernández-Palacios JM y J Martín (dir. y coord.). *Naturaleza de las Islas Canarias. Ecología y Conservación*, Santa Cruz de Tenerife: Ediciones Turquesa, p. 39-44.
- Guerra-García, J. M., Corzo, J., Espinosa, F. y García-Gómez, J. C. 2004. Assessing habitat use of the endangered marine mollusc *Patella ferruginea* (Gastropoda,

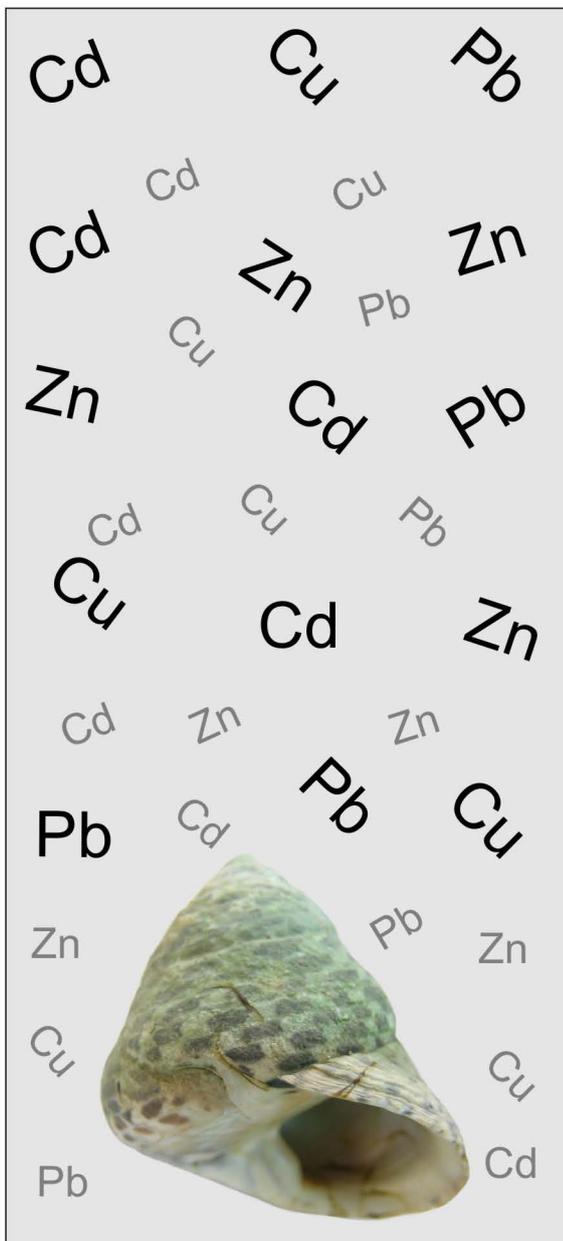
- Patellidae) in northern Africa: preliminary results and implications for conservation. *Biological Conservation*, 116: 319-326.
- Halpern, B. S. y Warner, R. R. 2002. Marine reserves have rapid and lasting effects. *Ecology Letters*, 5: 361-366.
- Hawkins, S. J., Corte-Real, H. B. S. M., Pannacciulli, F. G., Weber, L. C. y Bishop, J. D. D. 2000. Thoughts on the ecology and evolution of the intertidal biota of the Azores and other Atlantic islands. *Hydrobiologia*, 440: 3-17.
- Hayward, B. W. y Brook, F. J. 1981. Exploitation and redistribution of flax snail (*Placostylus*) by the prehistoric maori. *New Zealand Journal of Ecology*, 4: 33-36.
- Hockey, P. A. R. y Bosman, A. L. 1986. Man as an intertidal predator in Transkei: disturbance, community, convergence and management of a natural food resource. *Oikos*, 46: 3-14.
- Keough, M. J., Quinn, G. P. y King, A. 1993. Correlations between human collecting and intertidal mollusc populations on rocky shores. *Conservation Biology*, 7: 378-390.
- Kido, J. S., Murray, S. N. 2003. Variation in owl limpet *Lottia gigantea* population structures, growth rates, and gonadal production on southern California rocky shores. *Marine Ecology Progress Series*, 257: 111-124
- Kingsford, M. J., Underwood, A. J. y Kennelly, S. J. 1991. Humans as predators on rocky reefs in New South Wales, Australia. *Marine Ecology Progress Series*, 72: 1-14.
- Leal, M. 2004. Lanzarote y Fuerteventura: consideraciones en torno a la actividad pesquera y su incidencia en las hambrunas de antaño. Testimonios de prensa, en *VI Jornadas de Estudio sobre Lanzarote y Fuerteventura*. Tomo I.

- Arrecife: Cabildo insular de Lanzarote y Cabildo insular de Fuerteventura, p. 231-256.
- Lindberg, D. R., Estes, J. A. y Warheit, K. I. 1998. Human influences on trophic cascades along rocky shores. *Ecological Applications*, 8: 880-890.
- Mannino, M. A. y Thomas, K. D. 2001. Intensive mesolithic exploitation of coastal resources? Evidence from a shell deposit on the Isle of Portland (Southern England) for the impact of human foraging on populations of intertidal rocky shore molluscs. *Journal of Archaeological Science*, 28: 1101-1114.
- Milazzo, M. y Ramos-Esplá, A. A. 2000. Methods for studying the impact of trampling on rocky shallow areas, en Goñi, R., Harmelin-Vivien, M., Badalamenti, F., Le Diréach, L. y Bernard, F. (eds). *Introduction guide to methods for selected ecological studies in marine reserves*. Marsella-Francia: G.i.s. Posidonie, p. 63-68.
- Moreno, J. M. 1988. *Guía de las aves de las Islas Canarias*. Santa Cruz de Tenerife: Interinsular Canaria, p. 231
- Murray, S. N., Denis, T. G., Kido, J. S. y Smith, J. R. 1999. Human visitation and the frequency and potential effects of collecting on rocky intertidal populations in southern California marine reserves. *CalCOFI Rep*, 40: 100-106.
- Navarro, P. G., Ramírez, R., Tuya, F., Fernández-Gil, C., Sánchez-Jerez, P. y Haroun, R. J. 2005. Hierarchical analysis of spatial distribution patterns of Patellid limpets in the Canary Islands. *Journal of Molluscan Studies*, 71: 67-73.
- Núñez, J., Brito, A. y Barquín, J. 1994. *Cartografía de la distribución, biología y evaluación de los recursos marisqueros de moluscos litorales (lapas, oreja y mejillón), primera fase: La Palma, Tenerife, Gran Canaria y Fuerteventura*. La Laguna: Departamento de Biología Animal (Universidad de La Laguna) y

- Consejería de Agricultura, Pesca y Alimentación (Gobierno de Canarias), p. 321.
- Núñez, J., Brito, M. C., Riera, R., Doctito, J. R. y Monterroso, O. 2003. Distribución actual de las poblaciones de *Patella candei* D'Orbigny, 1840 (Mollusca, Gastropoda) en las Islas Canarias. Una especie en peligro de extinción. *Boletín del Instituto Español de Oceanografía*, 19: 371-377.
- Peña, J. 1996. *Estudio de los ciclos reproductores de cuatro especies de lapas y dos tróquidos (Gastropoda, Prosobranchia) del piso intermareal de la costa vasca*. Tesis doctoral. Madrid: Universidad Autónoma de Madrid, p. 441.
- Ramírez, R. y Haroun, R. J. 2006. *Estado de las poblaciones de diversos moluscos presentes en las costas de la isla de Fuerteventura*. Informe técnico. Las Palmas de Gran Canaria: BIOGES-Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, p. 20.
- Ramírez, R., Tuya, F., Haroun, R. J. 2008. *El Intermareal Canario. Poblaciones de lapas, burgados y cañadillas*. Las Palmas de Gran Canaria: BIOGES, p. 54.
- Ramírez, R., Tuya, F. y Haroun, R. J. 2009. Spatial patterns in the population structure of the whelk *Stramonita haemastoma* (Linnaeus, 1766) (Gastropoda: Muricidae) in the Canarian Archipelago (eastern Atlantic). *Scientia Marina*, 73: 431-437.
- Ramírez, R., Tuya, F., Sánchez-Jerez, P., Fernández-Gil, C., Bergasa, O., Haroun, R. J. y Hernández-Brito, J. J. 2005. Population structure and spatial distribution of the gastropod molluscs *Osilinus atrata* and *Osilinus sauciatus* in the rocky intertidal zone of the Canary Islands. *Ciencias Marinas*, 31: 697-706.

- Roy, K., Collins, A. G., Becker, B. J., Begovic, E. y Engle, J. M. 2003. Anthropogenic impacts and historical decline in body size of rocky intertidal gastropods in southern California. *Ecology Letters*, 6: 205-211.
- Sagarin, R. D., Ambrose, R. F., Becker, B. J., Engle, J. M., Kido, J., Lee, S. F., Miner, C. M., Murray, S. N., Raimondi, P. T., Richards, D. y Roe, C. 2007. Ecological impacts on the limpet *Lottia gigantea* populations: human pressure over a broad scale on island and mainland intertidal zones. *Marine Biology*, 150: 399-413.
- Stephenson, T. A., Stephenson, A. 1949. The universal features of zonation between tide-marks on rocky coasts. *The Journal of Ecology*, 37: 289-305
- Thompson, R. C., Crowe, T. P. y Hawkins, S. J. 2002. Rocky intertidal communities: past environmental changes, present status and predictions for the next 25 years. *Environmental Conservation*, 29: 168-191.
- Tuya, F., García-Díez, C., Espino, F. y Haroun, R. J. 2006b. Assessment of the effectiveness of two marine reserves in the Canary Islands (eastern Atlantic). *Ciencias Marinas*, 32: 505-522.
- Tuya, F., Ramírez, R., Sánchez-Jérez, P., Haroun, R. J., González-Ramos, A. J. y Coca, J. 2006a. Coastal resources exploitation can mask bottom-up mesoscale regulation of intertidal populations. *Hydrobiologia*, 553: 337-344.
- Underwood, A. J. 1997. *Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance*. Cambridge: Cambridge University Press, p. 504.

Uso de *Osilinus atrata* como biomonitor de metales pesados (Cd, Cu, Pb y Zn) en el Archipiélago Canario



Capítulo

3

1. INTRODUCCIÓN

La contaminación marina global se ha incrementado en las últimas décadas, siendo la contaminación por metales una de las mayores amenazas (Martin y Richardson, 1991; GESAMP, 2001). En este sentido, la vigilancia del medioambiente, es decir, la protección de la salud pública y de los recursos naturales, ha centrado los esfuerzos en el desarrollo de métodos de vigilancia y monitorización que permitan detectar de manera temprana las entradas de estos contaminantes al medio. Los métodos de monitoreo son, hoy en día, esenciales para estudiar los procesos de contaminación a largo plazo en el ambiente costero (Feldstein *et al.*, 2003). Para su desarrollo, el uso de organismos vivos ofrece mejores ventajas frente al análisis de las aguas o del sedimento. Así, por ejemplo, la concentración acumulada de un contaminante en los organismos es una medida integrada en el tiempo de la fracción biodisponible en el ambiente, la cual tiene una relevancia ecotoxicológica directa (Bryan *et al.*, 1985; Phillips y Rainbow, 1994; Langston y Spence, 1998). Las experiencias de monitorización han utilizado tradicionalmente diferentes tipos de organismos como algas, gusanos, crustáceos, moluscos, etc. (Bryan *et al.*, 1980, 1985; Philips, 1990; Rainbow y Philips, 1993). En concreto, los moluscos bivalvos (p. ej. mejillones y ostras) han sido los más ampliamente utilizados, un ejemplo es la propuesta de trabajo del Mussel Watch Program (Goldberg *et al.*, 1983), aunque otros como los moluscos gasterópodos (p. ej. lapas y tróquidos) son cada vez más empleados (p. ej. Nicolaidou y Nott, 1990, 1998; Miguel *et al.*, 1999; Campanella *et al.*, 2001; Cubadda *et al.*, 2001; Conti y Cecchetti, 2003; Liang *et al.*, 2004). Esto no sólo ha ampliado el espectro de especies útiles en el monitoreo ambiental, sino que ha supuesto la aplicabilidad a otras muchas áreas en donde no existen o son escasas las especies usadas previamente. Además, otro elemento interesante a señalar es que, el uso de especies comerciales

puede aportar información acerca de las potenciales entradas de metales en los humanos. El hombre, como último eslabón en multitud de cadenas alimenticias, puede acumular grandes cantidades de metales pesados (dado su carácter persistente), sufriendo por ello multitud de efectos negativos sobre la salud (Hansen, 1990; Orozco *et al.*, 2002; Rubio *et al.*, 2004, 2006).

La presencia de metales pesados en el medioambiente es el resultado de la combinación de procesos naturales y de episodios de polución motivados por la actividad humana. Algunos de los elementos son biológicamente esenciales como el cinc (Zn), el cobre (Cu), el cobalto (Co) o el hierro (Fe), jugando un papel metabólico en enzimas u otras macromoléculas; mientras, otros son tóxicos incluso a bajas concentraciones como el cadmio (Cd), el mercurio (Hg) o el plomo (Pb) (Langston, 1990; Phillips y Rainbow, 1994; Depledge *et al.*, 1998; Rainbow, 2002). En el medio marino, la especiación de los metales es variada (p. ej. iones metálicos libres, metales absorbidos a materia particulada orgánica e inorgánica, etc.) pero las distintas formas se encuentran de una manera equilibrada (Rainbow, 1990; Phillips y Rainbow, 1994; Depledge *et al.*, 1998). Sin embargo, no todos los elementos que se encuentran en la fase acuosa o en los sedimentos están disponibles para ser tomados y acumulados por los organismos marinos (Rainbow, 1995; Depledge *et al.*, 1998). La incorporación de los metales puede ocurrir directamente desde el medio, a través de la pared corporal y/o estructuras respiratorias, por la ingestión del alimento o por una combinación de ambas (Luoma, 1983; Rainbow, 1990; Phillips y Rainbow, 1994; Depledge *et al.*, 1998; Phillips, 1998; Connell *et al.*, 1999). La importancia relativa de cada una de las rutas varía, para cada metal y cada organismo, con las condiciones físico-químicas del ambiente (pH, salinidad, temperatura, etc.) o debido a algún proceso biológico

(alimentación, cambios de hábitat, sexo, etc.) (Luoma, 1983; Marina y Enzo, 1983; Philips y Rainbow, 1994; Van Roon, 1999). La acumulación final en los tejidos corporales resultará del balance neto del proceso de acumulación y excreción (Rainbow, 1990; Phillips y Rainbow, 1994).

Además del desarrollo social y económico ocurrido en Europa en las últimas décadas, también han sido establecidos programas más extensos y precisos de medidas ambientales tanto a nivel nacional como internacional. Así, a nivel europeo y en relación a la protección de las aguas, se ha adoptado un marco de actuación comunitario gracias a la entrada en vigor de la Directiva Marco de Aguas (DMA; Directiva 2000/60/CE). Igualmente, se ha aprobado recientemente la Directiva 2008/105/CE relativa a las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas, en la cual se fijan nuevos valores límite para sustancias tóxicas como los metales. También se han establecido normativas específicas en el ámbito de la salud humana, como las que establecen los contenidos máximos de metales pesados en productos alimenticios (Reglamento (CE) N° 1881/2006). Particularmente, para los moluscos bivalvos son: 1 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco para el Cd y 1.5 $\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco para el Pb. En relación a los moluscos gasterópodos (como los analizados en este estudio) la Comisión Europea está estudiando la oportunidad de establecer límites máximos de Cd y Pb. Además, se aconseja la revisión de los límites establecidos para el Cu en los productos de la pesca (Orden SCO/3517/2006).

En las últimas décadas, la población canaria ha aumentado rápidamente, provocando un espectacular desarrollo urbano e industrial en las zonas costeras. Aunque no existen grandes industrias, multitud de pequeños establecimientos, como talleres de

automoción, mantenimiento de buques, así como las actividades agropecuarias intensivas, son considerados pequeños productores de productos peligrosos (Vidarte, 2001). Consecuentemente, los vertidos al mar, tanto de aguas residuales urbanas como industriales se han incrementado en todas las islas. En muchos casos, los vertidos presentan carencias en su saneamiento básico (Morales, 1997), mientras que en otros ni siquiera existe tratamiento alguno. Esto ha expuesto a las aguas costeras a grandes cantidades de contaminantes y, por lo tanto, a metales pesados. Al mismo tiempo, el consumo de especies costeras, como crustáceos y moluscos, no ha cesado (Ramírez *et al.*, 2008). La preocupación ante este problema de contaminación ha motivado la búsqueda e identificación en las costas canarias de especies monitoras de acumulación, preferentemente especies con posibles transferencias al ser humano. En este sentido, los trabajos realizados previamente en el Archipiélago Canario son escasos, centrándose mayoritariamente en el uso de moluscos (Díaz *et al.*, 1992; Collado, 1999; Hernández, 2005; Collado *et al.*, 2006; Ramírez *et al.*, 2006; Bergasa *et al.* 2007). En estos estudios se utilizaron moluscos gasterópodos (lapas y tróquidos), ya que los moluscos bivalvos (p. ej. mejillón) eran escasos y se encontraban únicamente en zonas muy localizadas de algunas islas (Nuñez, 1995). Los estudios previos en las Islas Canarias presentan algunas limitaciones, tales como ser estudios muy localizados espacialmente o sin diferenciación entre especies. En este sentido, el presente trabajo tratará de extender nuestro conocimiento sobre el empleo de la biomonitorización utilizando el molusco gasterópodo *Osilinus atrata* (Wood, 1828) a lo largo del Archipiélago Canario, donde se han determinado las concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn en diferentes localizaciones. Estos metales fueron seleccionados por su potencial tóxico y su importante impacto medioambiental en las aguas costeras (ver abajo) siendo ampliamente utilizados en este tipo de estudios de biomonitorización (Miguel *et al.*, 1999; Cubbada *et al.*, 2001).

El Cd es un elemento “raro”, que se encuentra de manera natural en la corteza terrestre pero nunca de manera libre (Tabla 1). Procede mayoritariamente de la actividad industrial y entra en el océano a través de las aguas de escorrentía (p. ej. ríos, barrancos, etc.), vía atmósfera e incluso en las aguas residuales (Depledge *et al.*, 1998). Una vez en el océano el Cd presenta una distribución de tipo nutriente (ligada a los nitratos y fosfatos), es decir, está ausente en las aguas superficiales y muestra un enriquecimiento en las aguas profundas (Bruland, 1983; Burton & Statham, 1990). Este metal puede ser tóxico tanto para animales como para los humanos. Por ejemplo, el Cd puede producir efectos perjudiciales sobre la salud de los moluscos gasterópodos, como alterar funciones celulares vitales (p. ej. permeabilidad celular, actividad de los lisosomas, etc.) (Siboni *et al.*, 2004), causar patologías en los tejidos digestivos (Najle *et al.*, 2000) e incluso la muerte (Axiak y Schembri, 1982; De Wolf *et al.*, 2004). En los humanos puede provocar afecciones renales, cardiovasculares, hipertensión, etc. (Harrison, 1990; Orozco *et al.*, 2003).

El Cu es un metal común en la naturaleza aunque debido a su demanda la producción industrial ha aumentado enormemente (Tabla 1). Así, las cantidades de Cu se han expandido en el medio ambiente, entrando principalmente en el medio marino a través de aguas de escorrentía (p. ej. ríos, barrancos, etc.), vía atmósfera y en las aguas residuales (Depledge *et al.*, 1998). Este metal se considera esencial para diversas actividades metabólicas como el transporte de oxígeno o como cofactor de enzimas o transporte de electrones, aunque en exceso también puede ser tóxico (George, 1990). Así, el Cu puede producir efectos subletales en los moluscos, por ejemplo, sobre el crecimiento, la morfología o la reproducción (visto en Langston, 1990). Particularmente, moluscos gasterópodos como las lapas son muy sensibles al Cu,

presentando efectos significativos para múltiples biomarcadores como la actividad lisosomal, la neurotoxicidad o el estado fisiológico que pueden provocar incluso la muerte (Marchán *et al.*, 1999; De Pirro *et al.*, 2001; Brown *et al.*, 2004). En humanos el Cu puede afectar al sistema digestivo, al hígado, causar lesiones pulmonares, etc. (Berman, 1980; Orozco *et al.*, 2003).

Tabla 1. Fuentes de procedencia de los metales estudiados.

| | |
|---|--|
| Cadmio (Cd) | <p>Fuentes naturales: corteza terrestre (minerales); asociado a los recursos de cinc; en los fosfatos; materiales orgánicos fósiles (p. ej. petróleo). Fuentes antropogénicas: industrial: tratamientos de metales (aleaciones y galvanizados), soldadura, asociado al cinc y comercialmente producido como fusión; industrias metálicas (emisiones de gases, polvo y en las aguas de desecho); fabricación de placas eléctricas, baterías de Ni-Cd y neumáticos; en los fertilizantes fosfatados; en plásticos (PVC); aguas residuales urbanas.</p> |
| Cobre (Cu) | <p>Fuentes naturales: corteza terrestre (minerales). Fuentes antropogénicas: minería; equipos eléctricos, aleaciones, recubrimiento de metales, catalizador de petróleo, pinturas anti-incrustantes (algicida), conservador de la madera, corrosión y en aguas residuales urbanas.</p> |
| Plomo (Pb) | <p>Fuentes naturales: corteza terrestre (minerales). Fuentes antropogénicas: industrial: placas, planchas, pesos y lastres, tuberías y cubiertas de cables; gasolinas, pinturas, cerámicas, cristalería, estabilizador en plásticos, armas, baterías, corrosión; aguas residuales urbanas.</p> |
| Cinc (Zn) | <p>Fuentes naturales: corteza terrestre (minerales); asociado con cadmio y plomo. Fuentes antropogénicas: recubrimiento de metales, aleaciones, pigmentos, pinturas, esmaltes, plásticos, lubricantes, cristales, catalizador, aplicaciones farmacéuticas (povos de talco, pomadas, etc.).</p> |
| <p>Fuentes: Salomons y Förstner, 1984; Merian, 1991; Laws, 1993; Orozco <i>et al.</i>, 2002</p> | |

El Pb ocurre de manera natural en el ambiente, pero las mayores concentraciones proceden de las actividades humanas (Tabla 1). Una de las mayores entradas ha sido vía atmósfera por combustión de la gasolina utilizada en vehículos (Helmerts *et al.*, 1990); la corrosión de tuberías, pinturas, etc. también liberan Pb a las aguas o los suelos (Tabla 1). Este metal se considera tóxico para plantas, animales y humanos. Particularmente, sobre los moluscos gasterópodos se pueden producir efectos subletales (p. ej. sobre el crecimiento) e incluso llegar a producir la muerte (Amusan *et al.*, 2002). El Pb también

puede afectar a la fase larvaria de algunos moluscos comerciales como las orejas de mar (Gorski y Nugegoda, 2006). En los humanos es especialmente peligroso en niños y mujeres embarazadas debido a que el Pb puede sustituir al calcio en los huesos; puede producir anemia, problemas en el sistema nervioso y en los riñones, etc. (Orozco *et al.*, 2003).

El Zn es un metal común de forma natural pero las concentraciones están aumentando por causas no naturales (Tabla 1). Una de las mayores entradas de Zn en las aguas es a través de las aguas residuales industriales que no son satisfactoriamente depuradas. En el océano el Zn presenta una distribución de tipo nutriente, así como una relación directa con los silicatos (Bruland, 1983). El Zn es considerado esencial para los organismos, por su función activando muchas enzimas, como nutriente, influyendo en el crecimiento, desarrollo de los huesos, integridad de la piel, etc. (Berman, 1980; Orozco *et al.*, 2003). Como el resto de metales, el Zn puede producir efectos subletales en los moluscos gasterópodos, como por ejemplo, reducir la tasa de crecimiento o la actividad reproductora (Laskowski y Hopkin, 1996). También, como el Cu, puede provocar bradicardia y la muerte de moluscos gasterópodos como las lapas (Marchán *et al.*, 1999). La intoxicación con Zn en los humanos provoca náuseas, vómitos, anemia, etc. (Berman, 1980).

Por tanto, el principal objetivo de este estudio fue comprobar el potencial del uso de la especie *Osilinus atrata* como biomonitor de metales pesados en el Archipiélago Canario. Para ello es necesario conseguir los siguientes objetivos particulares: (1) aportar los niveles base a partir de los cuales realizar comparaciones con otros biomonitores, principalmente en el área canaria; (2) establecer la variación espacial para

las concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn en el Archipiélago Canario; (3) estudiar la influencia del sexo sobre variabilidad metálica registrada; y (4) contrastar las concentraciones metálicas observadas respecto a los contenidos máximos permitidos en moluscos de consumo humano.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Área de estudio y especie seleccionada

Los ejemplares de *Osilinus atrata* (burgado hembra) fueron recolectadas en nueve localidades a lo largo del Archipiélago Canario, una por isla, excepto en el Archipiélago Chinijo donde se seleccionaron dos, una en Alegranza y otra en La Graciosa, durante marzo de 2003 (Fig. 1). Las localidades presentaron *a priori* similares condiciones ambientales y fueron representativas de las diferentes islas.

Osilinus atrata se encuentra ampliamente distribuido en las costas rocosas del Archipiélago Canario (Ramírez *et al.*, 2005). Es una especie herbívora, la cual se alimenta de algas de la superficie de las rocas que obtiene mediante el raspado con la rádula. Un estudio sobre sus preferencias alimenticias sugiere que *O. atrata* evita las algas con defensas químicas (p. ej. *Alsidium corallinum*), mientras que se demostró que *Enteromorpha muscoides* era el alga más consumida (Granado y Caballero, 2001). Presenta sexos separados – especie dioica – alcanzando entre los 13 y los 15 mm (medida del diámetro mayor de la boca de la concha = ancho en este estudio) la madurez sexual; a estas tallas más del 80 % de los ejemplares presentan gónadas desarrolladas (Nuñez, 1995). Libera sus productos sexuales directamente al medio – fecundación externa – que parece ocurrir de forma masiva en el mes de Noviembre (Nuñez, 1995), aunque podría suceder varias veces al año (observación personal).

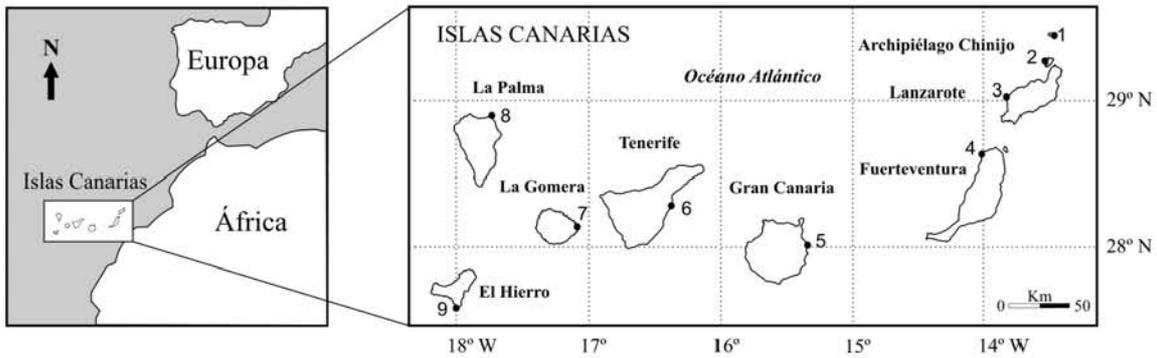


Figura 1. Área experimental y localidades de muestreo. 1: Punta Abades; 2: El Corral; 3: El Cochino; 4: El Cotillo; 5: Taliarte; 6: Malpais de Guímar; 7: Punta Llana; 8: Punta Cumplida; 9: La Restinga.

Algunas características de *Osilinus atrata* hacen que sea la especie más apropiada, de las especies de moluscos gasterópodos presentes en el litoral, para su uso como organismo biomonitor en las costas del Archipiélago Canario. Así, podemos enumerar: (1) fácil de recolectar e identificar – en comparación con *Patella* spp.; (2) presenta durante todo el año mucha mayor abundancia que su congénere *O. sauciatus* y que las *Patella* spp.; *O. sauciatus* no se encuentra en las tres islas más occidentales, mientras, el marisqueo ha diezariado enormemente las poblaciones de *Patella* spp., las cuales son difíciles de recolectar en muchas zonas del Archipiélago (Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005); (3) presenta suficiente cantidad de tejido para los análisis – en comparación con *Littorina striata* (chirrimil); (4) es una especie de interés marisquero y, altamente consumida por los humanos; su recolección no está regulada legalmente. En cambio, aunque las lapas son igualmente consumidas, su captura está actualmente regulada y sólo los mariscadores con licencia pueden recolectarlas. Por otra parte, la captura de los chirrimiles no está regulada (como los burgados), pero éstos no son consumidos.

Por tanto, la utilización de *Osilinus atrata* en este estudio se debe por un lado, a que satisface ampliamente las características óptimas que se requiere a cualquier

organismo biomonitor y que han sido descritas por Bryan *et al.* (1980), Philips (1990) y Philips y Rainbow (1994), y por otro, a que es consumido frecuentemente por la población (Ramírez *et al.*, 2005). Éstos se consumen frescos y se comercializan conservados en vinagre, aunque hay que señalar que en ambos casos sin ningún paso previo de depuración o control de ninguna clase. Por esta última razón, y como sugiere Hopkin (1998), los ejemplares de *O. atrata* no fueron depurados previamente a los análisis llevados a cabo en el presente trabajo, ya que se subestimaría la transferencia en la cadena trófica, en este caso hacia el humano.

2.2 Preparación del material y técnica de muestreo

La determinación de metales pesados debe realizarse bajo unas condiciones óptimas en la recogida, tratamiento y análisis en el laboratorio. Esto implica un procesamiento y almacenamiento cuidadoso de las muestras, una limpieza adecuada de los recipientes y el uso de reactivos ultrapuros en el análisis y digestión de las muestras. De este modo, todo el material plástico como el polipropileno, polietileno y Teflón® que estuvo en contacto con las muestras (p. ej. vasos de precipitado, matraces, vasos digestores, pinzas, espátulas, etc.) fueron previamente tratados. Los procedimientos de limpieza incluyen el uso de diferentes concentraciones de ácidos, recomendándose el uso de ácido clorhídrico (HCl) y ácido nítrico (HNO₃) (Moody y Lindstrom, 1977; Capodaglio *et al.*, 1996; Iyengar *et al.*, 1998). Usando como referencia dichas recomendaciones, el procedimiento de limpieza consistió primeramente en un lavado con detergente Contrad-100 (Laboratorio Decon, USA) durante 48 h y posteriormente un aclarado con agua desionizada obtenida con el sistema Milli-Q Plus-185, Millipore, 18 MΩ·cm. La segunda fase del procedimiento consistió en un serie de lavados con ácido en dos etapas sucesivas; primero se utiliza una disolución de HNO₃ (3 M) donde

el material se mantiene durante 72 h, seguidamente se procede a aclarar cuidadosamente el material con agua Milli-Q, a continuación se pasa a lavar en un baño que contiene una disolución de HCl (0.1 M) durante otras 72 h, enjuagándose de nuevo con agua Milli-Q. Finalmente, todo el material se secó dentro de una cámara de flujo laminar Clase 100. Los botes limpios fueron almacenados en bolsas de plástico con auto-cierre.

Los ejemplares de *Osilinus atrata* fueron aleatoriamente recolectados en la zona intermareal de cada localidad durante la marea baja. No se diferenciaron en su recolección los diferentes niveles en los que se localizan estos organismos en la costa (zonas intermareales) y se recogieron, además, ejemplares de diferentes tallas. De esta forma, se simuló la forma de captura de los mariscadores. Esta técnica de muestreo evita, por un lado, posibles diferencias en las concentraciones metálicas ocasionadas por la posición que ocupen los organismos en el litoral, tal y como han sido detectadas para otros moluscos gasterópodos (Gay y Maher, 2003); por otro lado, la recolección de ejemplares de un rango amplio de tallas disminuye los problemas para valorar si las diferencias metálicas entre poblaciones se deben a las concentraciones ambientales o la talla de los ejemplares (Boyden, 1974). Una vez recolectadas, las muestras fueron dispuestas en bolsas de polipropileno y transportadas al laboratorio, donde fueron conservadas a -18° C hasta su posterior análisis.

2.3 Digestión y análisis

Previamente a la digestión, cada ejemplar fue medido (altura y anchura de la concha) (Tabla 2). Luego, los tejidos blandos fueron cuidadosamente extraídos de sus conchas y enjuagados con agua desionizada para eliminar las sales y restos de conchas. La limpieza se realizó a mano, llevando puestos guantes y usando pinzas de plástico. Posteriormente se determinó el sexo mediante el estudio de las gónadas, las cuales son

fácilmente identificadas mediante el color: los ejemplares macho poseen gónadas de color naranja teja, los hembra de color negruzco, mientras que los neutros de color castaño (Nuñez, 1995). A continuación, se procedió al secado de los tejidos blandos hasta peso constante bajo lámparas de luz infrarroja “IR” (Fig. 2).

Tabla 2. Rangos (mín. – máx.) de altura, anchura y peso seco sobre el número total (n) de ejemplares recolectados por localidad. 1: Punta Abades; 2: El Corral; 3: El Cochino; 4: El Cotillo; 5: Taliarte; 6: Malpaís de Guímar; 7: Punta Llana; 8: Punta Cumplida; 9: La Restinga.

| Localidad | n | Altura (mm) | Anchura (mm) | Peso seco (g) |
|-----------|-----|-------------|--------------|-----------------|
| 1 | 8 | 17 – 24 | 17 – 24 | 0.1239 – 0.3537 |
| 2 | 8 | 10 – 16 | 11 – 17 | 0.0207 – 0.0835 |
| 3 | 16 | 16 – 25 | 17 – 25 | 0.0996 – 0.3671 |
| 4 | 16 | 8 – 18 | 10 – 19 | 0.0167 – 0.1598 |
| 5 | 16 | 9 – 21 | 12 – 21 | 0.0265 – 0.3359 |
| 6 | 16 | 11 – 21 | 12 – 20 | 0.0271 – 0.908 |
| 7 | 15 | 17 – 27 | 18 – 25 | 0.0735 – 0.3934 |
| 8 | 8 | 12 – 20 | 14 – 21 | 0.0402 – 0.1951 |
| 9 | 9 | 14 – 18 | 15 – 19 | 0.0666 – 0.2031 |
| Total | 112 | 8 – 27 | 10 – 25 | 0.0207 – 0.908 |



Figura 2. Proceso de secado bajo lámparas de luz IR.

Aunque digestiones ácidas en recipientes de teflón utilizando placas calefactoras han sido utilizadas en otros trabajos (p. ej. Bergasa *et al.*, 2007), la tendencia actual es usar digestión con microondas ya que permite la descomposición completa de la muestra utilizando volúmenes muy pequeños de ácido (p. ej. ácido nítrico, HNO_3) y se reduce considerablemente el tiempo de tratamiento (aprox. 2 h) si se compara con las digestiones tradicionales. Otras ventajas están asociadas a una reducción de los pesos de muestra cuando se utilizan digestiones con microondas, en particular, de media y alta presión. A pesar de esto, se realizaron pruebas preliminares de digestión mediante el uso de placas calefactores y matraces herméticos de politetrafluoretileno (PTFE) para contrastar la eficiencia de ambas técnicas. En el método tradicional de digestión húmeda se utilizó una mezcla de ácidos, formada por HNO_3 y ácido perclórico (HClO_4) (BDH Aristar) en una proporción 2:1 (4 ml: 2 ml) (Puel *et al.*, 1987; Collado, 1999; Bergasa *et al.*, 2007); la duración del proceso de digestión fue de 3h a una temperatura de 120°C (Bergasa *et al.*, 2007). A pesar de que con este método pudieron obtenerse buenos resultados de recuperación (ver Tabla 3) presentó cierta limitaciones que caben señalar. Además de que este proceso requiere una mayor duración como ya se ha citado, la presencia de HClO_4 en la mezcla ácida puede introducir iones poliatómicos tales como ClO^+ ; mientras, el HNO_3 produce menores interferencias poliatómicas en comparación con el HClO_4 (Iyengar *et al.*, 1998). En el proceso de digestión con microondas se utilizó como componente principal el HNO_3 de alta pureza (BDH Aristar) debido a su alto poder oxidativo (Baldwin *et al.*, 1994; Iyengar *et al.*, 1998). Las digestiones se llevaron a cabo utilizando un microondas modelo ETHOS PRO-16 (Fig. 3) y haciendo uso de una adaptación del método 3052 de la agencia de protección medioambiental de los Estados Unidos (EPA, 1996) a las condiciones de media presión en las que se realiza la digestión en este equipo. Se trata de un método estándar aplicable a digestiones

ácidas de diversos tipos de matrices, entre las cuales están los tejidos biológicos, obteniéndose la descomposición completa de los mismos.

Finalmente, el proceso seguido en las digestiones de los tejidos de gasterópodos fue el siguiente: en primer lugar, se pesaban y taraban los vasos de digestión (hasta 16 vasos de TFM-Teflón); a continuación, se introducían para su pesado las muestras (ver detalles en la Tabla 2). En el equipo utilizado, microondas ETHOS PRO, se requiere un volumen mínimo de 18 ml de disolución ácida en los vasos para operar correctamente. Las condiciones del método fueron optimizadas para trabajar con 9 ml de HNO₃ concentrado suprapuro diluidos en 9 ml de agua desionizada en el rango de pesos de la matriz que fueron seleccionados en este estudio. Los vasos eran introducidos en protectores de seguridad (también de TFM-Teflón) ajustando las válvulas de seguridad (APCU-TR40, 30 bar.) para su cierre. La digestión de las muestras en el microondas duró aproximadamente 35 min, alcanzándose la temperatura máxima de 175° C, después de la cual se dejaron reposar las muestras hasta que alcanzarán la temperatura ambiente. La digestión de las muestras en el microondas tiene lugar en diferentes fases: (1) calentamiento progresivo en rampa de 15 min hasta alcanzar los 175° C; (2) fase constante de 10 min a 175° C; (3) fase de reposo hasta alcanzar la temperatura ambiente. La potencia del microondas fue máxima (1000 W) cuando se disponían en el microondas todos los vasos, mientras que ésta se disminuyó (750 W) cuando se redujo el número de ellos. La temperatura fue controlada automáticamente mediante un sensor (ATC-400CE) incluido en uno de los vasos (Fig. 3). Finalmente, las soluciones ácidas resultantes de la digestión fueron diluidas hasta 100 ml con agua desionizada en matraces graduados de plástico y transferidas a botes de polietileno de alta densidad (HDPE).

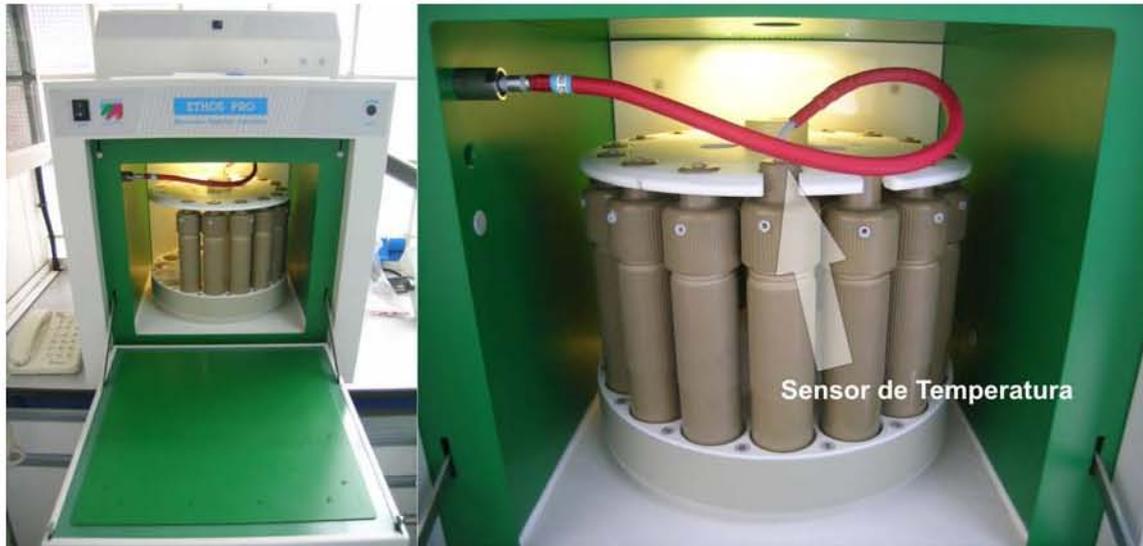


Figura 3. Microondas (ETHOS-PRO) utilizado para la digestión de las muestras. En la fotografía de la derecha se observa con detalle el dispositivo de control automático de la temperatura (ATC-400CE) dentro de uno de los vasos.

Las determinaciones de Cd, Cu y Pb en las muestras digeridas fueron realizadas utilizando espectrofotometría de absorción atómica de horno de grafito (GFAAS) en un equipo modelo Varian SpectrAA 220 con efecto Zeeman (Analytical Methods Varian; p. ej. Beach, 1989; Kahle *et al.*, 2003). En el caso de la determinación del Zn se utilizó espectrofotometría de absorción de llama (FAAS) con un instrumento Varian SpectrAA 220 FS (Fig. 4). La determinación del Cd y el Pb requiere el uso de una matriz modificadora de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (ver tabla 4; p. ej. Cubbada *et al.*, 2001; Bergasa *et al.*, 2007). La determinación de las concentraciones de metales se hizo por el método de adiciones estándar, analizándose cada muestra por triplicado. Las concentraciones metálicas se refirieron a peso seco de los tejidos blandos ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco). La eficiencia y recuperación en el proceso de digestión y posterior análisis de los metales en las muestras se verificó utilizando un material de referencia certificado (ERM® – CE278, tejido de mejillón). La concordancia entre los resultados obtenidos para las concentraciones de metales analizados en el material biológico de referencia y los

valores certificados para el mismo fue satisfactoria (Tabla 3). El material de referencia junto con blancos fue analizado (por triplicado) simultáneamente con los tejidos de las muestras para asegurar la consistencia y precisión de las recuperaciones sobre los análisis de metales. Por otra parte, las curvas de calibración obtenidas en la determinación espectrofotométrica de estándares para cada uno de los metales analizados mostró buenos coeficientes de correlación para cada uno de los métodos empleados (ver anexo B). Los límites de detección obtenidos fueron los siguientes: $0.0098 \mu\text{g l}^{-1}$ (Cd), 0.0016mg l^{-1} (Cu), $0.1022 \mu\text{g l}^{-1}$ (Pb) y $0.0014 \mu\text{g l}^{-1}$ (Zn).



Figura 4. Espectrofotómetro de absorción atómica de llama.

Tabla 3. Resultados del análisis del material de referencia ERM® – CE278 (tejido de mejillón).

| | Metal | Certificado | Medido | Recuperación (%) |
|---|-------|-------------------|------------------|------------------|
| A | Cd | 0.348 ± 0.007 | 0.30 ± 0.01 | 86.49 |
| | Cu | 9.45 ± 0.13 | 9.53 ± 0.5 | 100.74 |
| | Pb | 2.0 ± 0.04 | 1.88 ± 0.09 | 90 |
| | Zn | 83.1 ± 1.71 | 83.110 ± 4.1 | 100.02 |
| B | Cd | 1.371 ± 0.04 | 1.274 ± 0.03 | 92.89 |
| | Cu | 3.7 ± 0.08 | 3.3 ± 0.7 | 91.00 |
| | Pb | 7.9 ± 0.24 | 8.9 ± 0.27 | 113.4 |
| | Zn | 32.7 ± 0.1 | 32.87 ± 0.1 | 100.34 |

A: digestión en placa calefactora; B: digestión en microondas; concentraciones metálicas ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco); replicas = 3

Tabla 4. Parámetros instrumentales generales y matrices modificadoras utilizadas.

| | Cd | Cu | Pb | Zn |
|---|--|----------------|--|--|
| Longitud de onda | 228.8 nm | 327.4 nm | 283.3 nm | 213.9 nm |
| Corrección de fondo | Zeeman | Zeeman | Zeeman | Lámpara de Deuterio (llama aire-acetileno) |
| Modificador químico | Dihidrogenofosfato de amonio 500 µg/ml | * | Dihidrogenofosfato de amonio 500 µg/ml | * |
| Secado | Rampa 85-120°C | Rampa 85-120°C | Rampa 85-120°C | – |
| Temperatura de calcinación | 650° C | 700 ° C | 700 ° C | – |
| Temperatura de atomización | 1800° C | 2300 ° C | 2100 ° C | – |
| Fase de limpieza | 2100° C | 2600 ° C | 2500 ° C | – |
| * sin modificador (el Zn se analizó por absorción de llama) | | | | |

2.4 Análisis estadístico

En primer lugar, se descartaron los valores “raros” (*outliers*) que fueron detectados mediante la representación de diagramas caja (*Box-and-Whisker plot*) (Fig. 5). A continuación, se establecieron los rangos (mín. – máx.) de cada metal para los diferentes conjuntos de datos por localidad de muestreo. Igualmente se hallaron y representaron las concentraciones medias metálicas referidas a peso seco (p. s.) junto con el error estándar (E.E.) para cada localidad. Las diferencias de concentración metálica para los factores isla y sexo fueron testificadas mediante el uso de análisis de la varianza (ANOVA). Los datos fueron transformados al logaritmo para favorecer la normalidad de las variables (Martínez-González *et al.*, 2001). Se aplicó el test de Barlett para comprobar la homogeneidad de las varianzas y la normalidad de la población. El nivel de significación se situó en $p \leq 0.01$. Para determinar que grupos eran significativamente diferentes de los otros se aplicó el test *a posteriori* de comparación múltiple de Tukey (Martínez-González *et al.*, 2001; Conti *et al.*, 2005). Todos los

análisis estadísticos y representaciones gráficas fueron ejecutados mediante el uso del paquete estadístico STATGRAPHICS Plus 5.0, la hoja de cálculo EXCEL (Microsoft Windows XP) y Sigmaplot 6.0.

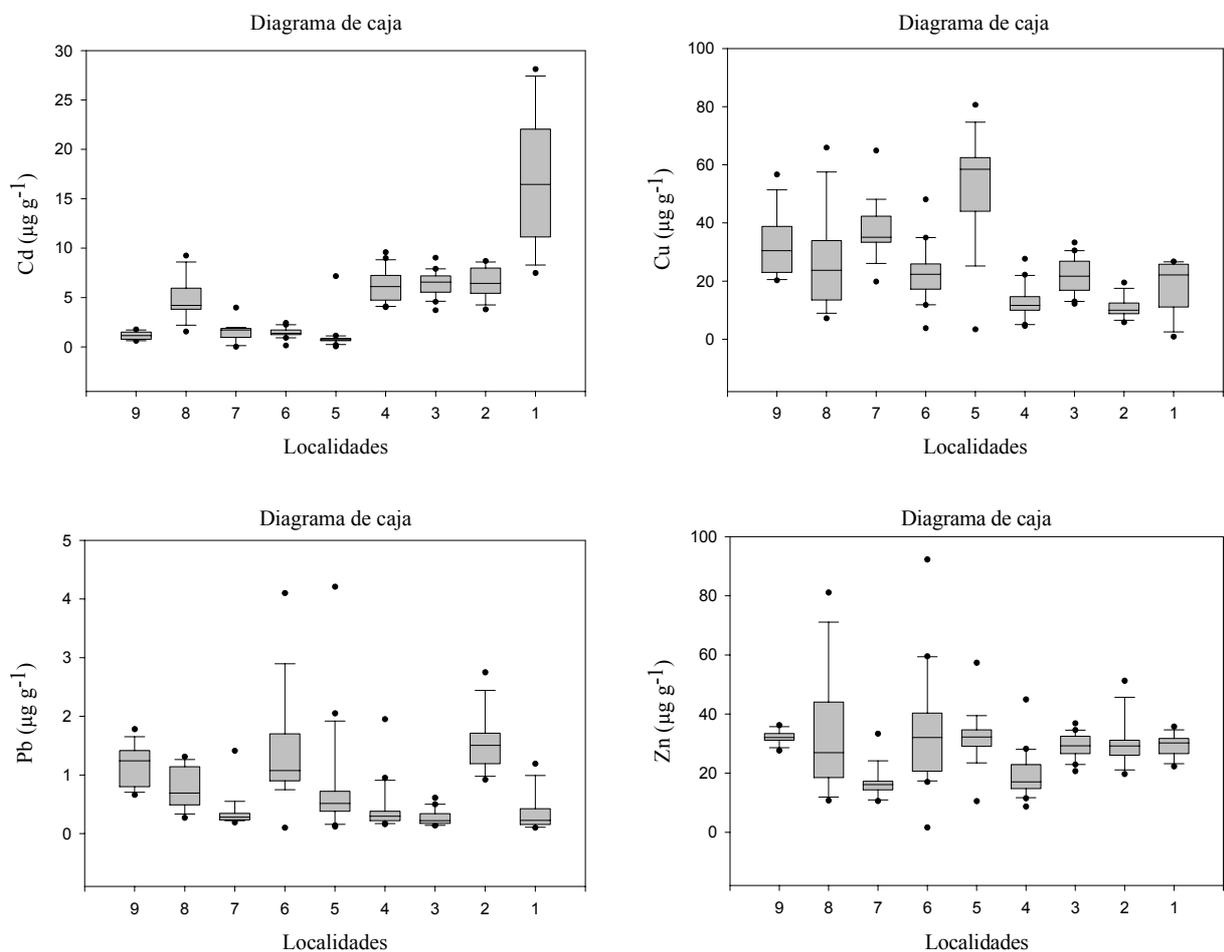


Figura 5. Concentraciones de Cd, Cu, Pb y Zn ($\mu\text{g g}^{-1}$). La línea de los diagramas caja representa la mediana (percentil 50) y la caja el primer (percentil 25) y tercer cuartil (percentil 75). Los puntos representan los valores raros o “outliers”. 1: Punta Abades; 2: El Corral; 3: El Cochino; 4: El Cotillo; 5: Taliarte; 6: Malpaís de Guímar; 7: Punta Llana; 8: Punta Cumplida; 9: La Restinga.

3. RESULTADOS

3.1. Variación espacial y efecto del sexo sobre las concentraciones metálicas

En la tabla 5 se indican los rangos de concentración metálica para las diferentes localidades de muestreo y para la totalidad del estudio. Las concentraciones metálicas presentaron la siguiente secuencia decreciente: $Zn \geq Cu > Cd \geq Pb$. Ya que el número de datos para algunos grupos no es muy alto, los resultados obtenidos y, por tanto, las conclusiones deben tomarse como tendencias sobre los patrones de acumulación metálica y su variación espacial, que deberán confirmarse con estudios futuros más extensos y específicos. Por otro lado, se observó que, del total de ejemplares registrados, el 20.5 % fueron neutros, el 45.5 % machos, mientras que el 33.9 % hembras.

Tabla 5. Rangos (min. – máx.) de las concentraciones metálicas registradas. 1: Punta Abades; 2: El Corral; 3: El Cochino; 4: El Cotillo; 5: Taliarte; 6: Malpaís de Guímar; 7: Punta Llana; 8: Punta Cumplida; 9: La Restinga.

| Localidad | Cd | Cu | Pb | Zn |
|-----------|-----------------|------------------|-----------------|-------------------|
| 1 | 10.17-25.79 (6) | 6.30-26.71 (7) | 0.10-0.52 (7) | 25.34-35.75 (8) |
| 2 | 5.29-8.70 (7) | 8.28-12.78 (6) | 0.92-1.72 (7) | 19.67-32.69 (7) |
| 3 | 4.57-7.91 (14) | 12.16-30.51 (15) | 0.14-0.61 (16) | 20.64-36.83 (16) |
| 4 | 4.03-8.99 (15) | 4.98-19.71 (13) | 0.16-0.95 (15) | 11.50-26.39 (14) |
| 5 | 0.20-1.13 (14) | 41.08-74.67 (12) | 0.12-0.74 (14) | 24.91-37.43 (12) |
| 6 | 0.92-2.44 (15) | 12.29-34.80 (12) | 0.82-4.10 (13) | 20.16-59.33 (14) |
| 7 | 0.13-1.97 (13) | 26.09-48.18 (13) | 0.19-0.55 (14) | 10.55-24.14 (14) |
| 8 | 3.70-9.24 (6) | 13.00-38.01 (6) | 0.27-1.31 (8) | 10.71-47.81 (7) |
| 9 | 0.62-1.78 (9) | 20.89-43.54 (7) | 0.77-1.78 (9) | 27.66-36.19 (9) |
| Total | 0.13-25.79 (99) | 6.30-74.67 (91) | 0.10-4.10 (103) | 10.55-59.33 (101) |

Concentraciones metálicas ($\mu\text{g g}^{-1}$ p. s.); (n) número de ejemplares considerados en cada caso.

Los resultados del test de Barlett fueron no significativos, lo que indica homogeneidad de varianzas y, por tanto, permite el uso de la ANOVA. En este sentido, los resultados del ANOVA mostraron diferencias significativas en las concentraciones metálicas según la isla (Tabla 6). Se observó que las concentraciones de Cd fueron significativamente más altas en las localidades situadas en las islas más orientales (AC, L, F) que en las islas occidentales (GC, T, G y H) (Tabla 7; Fig. 6). Particularmente, en Alegranza (localidad en AC) se registró la mayor concentración de Cd para todo el Archipiélago (Tabla 7), mientras que la más baja en Taliarte (localidad en GC). Sin embargo, en Punta Cumplida (localidad de P) se registró una concentración significativamente más elevada que en las localidades analizadas en GC, G y H, pero similar a la observada en las islas más orientales (Tabla 7). Aunque el valor registrado en P es muy superior al encontrado en T (Fig. 6), su comparación (Test de Tukey) arrojó un nivel de significación mayor al límite considerado para este estudio ($p = 0.03$). En el caso del Cu, las concentraciones registradas presentaron un patrón contrario al Cd, es decir, las concentraciones de Cu fueron mayoritariamente menores en las localidades analizadas en las islas más orientales que en las islas occidentales (Fig. 6). Así, las concentraciones significativamente más bajas se registraron en El Corral (localidad del AC) y en El Cotillo (localidad de F), mientras que la más alta en Taliarte (localidad de GC) (Tabla 7). Para las concentraciones de Pb y Zn no se observaron patrones determinados respecto a la variabilidad espacial considerada. El Pb mostró concentraciones muy variables de una localidad a otra, presentando las mayores concentraciones en El Corral (localidad del AC), en el Malpaís de Guímar (localidad de T), en Punta Cumplida (localidad de P) y en La Restinga (localidad de H); las concentraciones más bajas se registraron en el resto de localidades (Tabla 7; Fig. 6). En cambio, las concentraciones de Zn fueron mayoritariamente similares entre las

localidades; particularmente, las concentraciones significativamente más bajas fueron las registradas en El Cotillo (localidad de F) y Punta Llana (localidad de G) (Tabla 7; Fig. 6).

Tabla 6. Resultados del ANOVA sobre la concentración metálica.

| Fuente de variación | gl | Cd | | Cu | | Pb | | Zn | |
|---------------------|----|-------|-----------|------|----------|------|----------|------|----------|
| | | Cm | F | Cm | F | Cm | F | Cm | F |
| Sexo | 2 | 15.08 | 103.63*** | 1.70 | 18.88*** | 1.25 | 5.88** | 0.49 | 7.84*** |
| Isla | 8 | 7.95 | 54.64*** | 2.65 | 29.30*** | 5.67 | 26.61*** | 0.80 | 12.82*** |
| Sexo x Isla | 10 | 0.16 | 1.13 | 0.13 | 1.50 | 0.20 | 0.97 | 0.03 | 0.62 |
| Residual | 78 | 0.14 | | 0.09 | | 0.21 | | 0.06 | |

gl: grados de libertad; Cm: cuadrados medios; F: F de Fisher. Nivel de significación (***: $p \leq 0.0001$; **: $p \leq 0.001$; *: $p \leq 0.01$)

Test de Barlett: Cd ($K^2 = 2.74$, gl = 2, $p = 0.25$); Cu ($K^2 = 0.75$, gl = 2; $p = 0.68$); Pb ($K^2 = 0.27$; gl = 2; $p = 0.86$); Zn ($K^2 = 3.53$, gl = 2, $p = 0.17$).

Tabla 7. Resultados del test de Tukey para la comparación de los contenidos metálicos entre islas.

| Cd | Cu | Pb | Zn |
|---------------------------|------------------------------------|-------------------------|------------------|
| 1 ≠ 3*; 1 ≠ 5, 6, 7, 9*** | 1 ≠ 2, 4**; 1 ≠ 5*** | 1 ≠ 2, 6, 9***; 1 ≠ 8** | 1 ≠ 7** |
| 2 ≠ 5, 6, 7, 9*** | 2 ≠ 3, 5, 7, 9***; 2 ≠ 6*; 2 ≠ 8** | 2 ≠ 3, 4, 5, 7*** | 2 ≠ 4*; 2 ≠ 7** |
| 3 ≠ 5, 6, 7, 9*** | 3 ≠ 4, 5*** | 3 ≠ 2, 6, 9***; 3 ≠ 8** | 3 ≠ 4*; 3 ≠ 7*** |
| 4 ≠ 5, 6, 7, 9*** | 4 ≠ 5, 7, 8, 9***; 4 ≠ 6* | 4 ≠ 6, 9***; 4 ≠ 8* | 4 ≠ 5, 6, 9*** |
| 5 ≠ 6, 8***; 5 ≠ 7* | 5 ≠ 6***; 5 ≠ 7*; 5 ≠ 8** | 5 ≠ 6, 9*** | 5 ≠ 7*** |
| 7 ≠ 8** | 6 ≠ 7, 9* | 6 ≠ 7*** | 6 ≠ 7*** |
| 8 ≠ 9** | | 7 ≠ 8, 9*** | |

Nivel de significación (***: $p \leq 0.0001$; **: $p \leq 0.001$; *: $p \leq 0.01$)

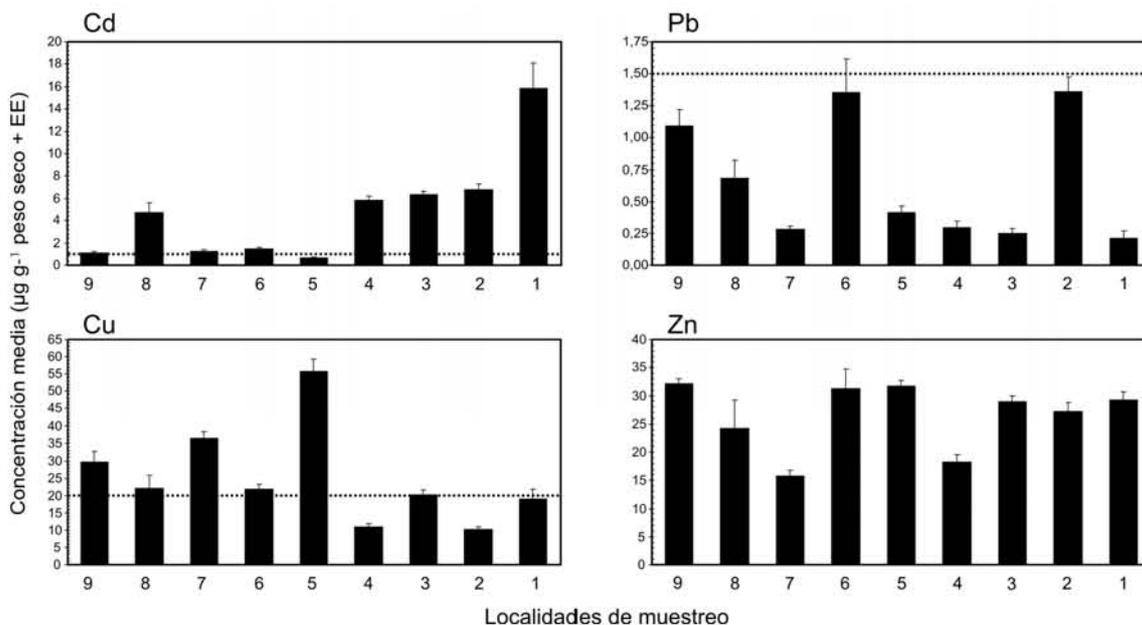


Figura 6. Concentración (media \pm E.E.) de Cd, Cu, Pb y Zn para la variabilidad espacial considerada (1: Punta Abades; 2: El Corral; 3: El Cochino; 4: El Cotillo; 5: Taliarte; 6: Malpaís de Guímar; 7: Punta Llana; 8: Punta Cumplida; 9: La Restinga.). Se indican con líneas los contenidos máximos permitidos en moluscos bivalvos ($\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco) de consumo humano. También, a modo de referencia, se indica el límite de Cu (actualmente derogado) que fue establecido para moluscos bivalvos y gasterópodos por la legislación española.

Por otro lado, los resultados del ANOVA también mostraron diferencias significativas en los contenidos metálicos según el sexo (Tabla 6). Así, la concentración de Cd registrada en los ejemplares macho fue mayor a la registrada en los ejemplares hembra; estos últimos presentaron, a su vez, una mayor concentración que los ejemplares neutro (Tabla 8; Fig. 7). En relación al Cu, la concentración metálica en los ejemplares neutros fue mayor a la registrada en los ejemplares hembra, que también mostraron mayor concentración que los ejemplares macho (Tabla 8; Fig. 7). Respecto al Pb, los ejemplares neutros presentaron mayor concentración que los ejemplares macho, pero ambos grupos mostraron una concentración similar a la registrada en los ejemplares hembra (Tabla 8; Fig. 7). Aunque se puede observar que las concentraciones

de Pb en los ejemplares hembra es mayor a las registradas en los ejemplares macho (Fig. 7), el test de Tukey ofreció un nivel de significación superior ($p = 0.03$) al considerado significativo en este estudio. Por último, la concentración de Zn en los ejemplares neutro fue similar a la registrada en los ejemplares macho y hembra; sin embargo, los ejemplares macho mostraron mayor concentración de Zn que los ejemplares hembra (Tabla 8; Fig. 7).

Tabla 8. Resultados del test de Tukey para la comparación de los contenidos metálicos entre sexos.

| Cd | Cu | Pb | Zn |
|--------|-------|------|-------|
| 0-1*** | 0-1* | 0-1* | 0-1 |
| 0-2*** | 0-2* | 0-2 | 0-2 |
| 1-2** | 1-2** | 1-2 | 1-2** |

0 = neutro; 1 = macho; 2 = hembra

Nivel de significación (***: $p \leq 0.0001$; **: $p \leq 0.001$; *: $p \leq 0.01$)

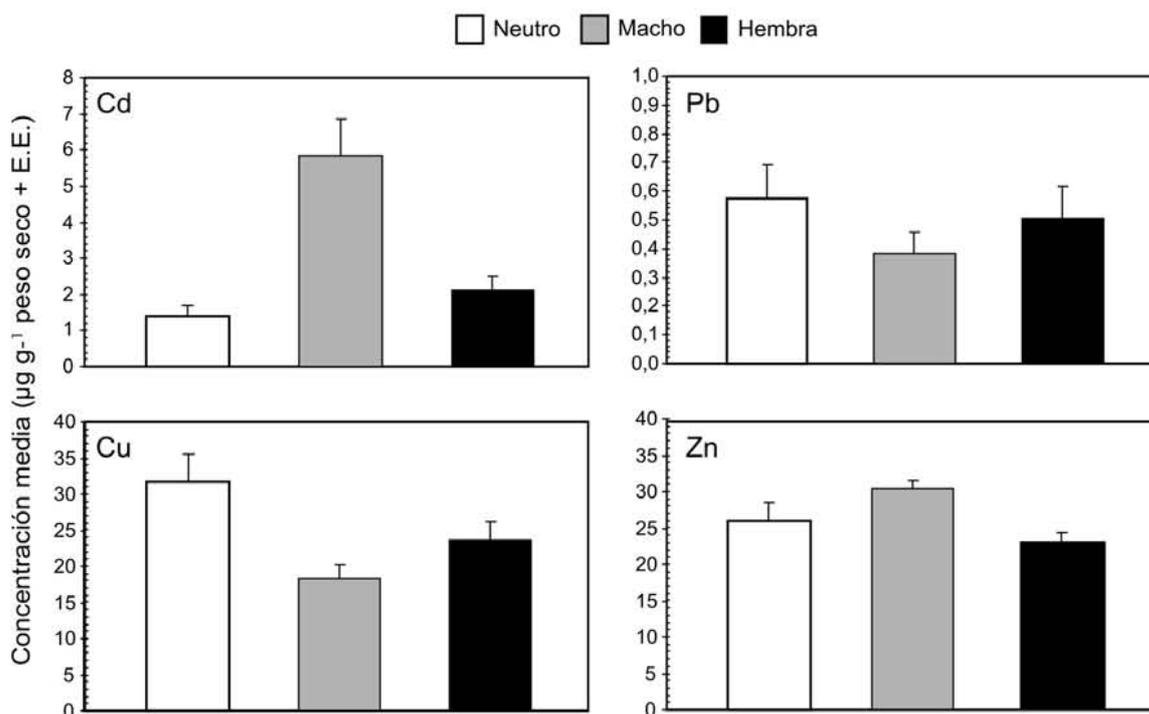


Figura 7. Concentración (media ± E.E.) de Cd, Cu, Pb y Zn según el sexo (neutro, macho o hembra).

Por último, el ANOVA no detectó significación para la interacción “sexo x isla” en ningún metal (Tabla 6). Este resultado indica que las diferencias metálicas entre sexos se mantienen constante de una isla a otra.

3.2 Consumo humano

En la figura 6 se indica, para el Cd y el Pb, el límite máximo permitido por la Comisión Europea para moluscos bivalvos de consumo humano, ya que dichos límites no han sido aún establecidos para los moluscos gasterópodos. En este sentido, la Comisión Europea está estudiando la oportunidad de establecer dichos límites en los moluscos gasterópodos (Orden SCO/3517/2006). En el caso del Cu, los progresos científicos aconsejan la revisión para los límites establecidos de dicho metal en los productos de la pesca (Orden SCO/3517/2006).

Se observa que tanto las concentraciones medias de Cd para cada localidad (Fig. 6) como las concentraciones encontradas para cada ejemplar (ver rangos, Tabla 3), superan mayoritariamente el límite establecido por las directivas europeas para moluscos bivalvos. En el caso del Pb, sólo algunos ejemplares lo superan (ver rangos, Tabla 3). Se debe tener en cuenta que las concentraciones referidas en peso fresco son entorno a un 15-20 % más alto que los establecidos en peso seco, como los obtenidos en este estudio. Por tanto, las concentraciones metálicas iniciales en las muestras frescas de *Osilinus atrata* – manera en la cual son consumidos – pueden ser incluso mayores a las registradas. No obstante, como se ha indicado previamente, para los moluscos gasterópodos no han sido aún establecidos límites para las concentraciones metálicas y, las comparaciones que se han hecho aquí, se hacen respecto de los valores establecidos para los moluscos bivalvos. Así, un estudio comparativo más amplio deberá realizarse cuando éstos se conozcan. Sin embargo, se ha indicado como referencia el límite para el

Cu, ya derogado, que la legislación española estableció en su momento para moluscos bivalvos y gasterópodos de consumo humano (Fig. 7). Se observa que en la mayoría de las localidades analizadas, los valores registrados de Cu superan dicho nivel (Fig. 7).

4. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio muestran que las concentraciones metálicas en *Osilinus atrata* variaron tanto intraespecífica como interespecíficamente. Por un lado, la variabilidad entre individuos de una misma especie está considerada como una de las causas biológicas que genera variación en las determinaciones metálicas (Langston y Spence, 1998). Además, aunque todas las fuentes de variación (p. ej. sexo) hubieran sido contabilizadas, una cantidad de variación residual – variación inherente – permanecería sin explicación (Boyden y Philips, 1981). Por otro lado, se sabe que las concentraciones metálicas varían enormemente entre especies que están muy relacionadas (p. ej. Blackmore, 2001).

Uno de los objetivos de este estudio fue suministrar los niveles base respecto a los cuales realizar comparaciones en el área canaria. Así, en la tabla 8 se puede comparar la variabilidad metálica registrada para *Osilinus atrata* respecto a aquella encontrada en trabajos previos en el Archipiélago, así como en relación a otras especies de moluscos gasterópodos utilizados como biomonitores. Por ejemplo, se observa que *O. atrata* muestra mayores concentraciones metálicas en este estudio que las registradas previamente, las cuales se obtuvieron en análisis a nivel de género o procedentes de una sola localidad (Tabla 8). En este sentido, las diferencias metálicas observadas parecen estar altamente relacionadas con la gran variabilidad espacial considerada en este estudio. En cualquier caso, el concepto de ‘niveles base’ debe ser utilizado con cierta

moderación, ya que su significado es diferente de acuerdo a las condiciones geoquímicas o hidrodinámicas de la masa de agua en estudio, las cuales pueden cambiar los contenidos ‘naturales’ de uno o más metales (Cubbada *et al.*, 2001; Conti y Cecchetti, 2003); como veremos más adelante, este hecho parece tener una gran importancia en la variabilidad metálica registrada para *O. atrata* en el Archipiélago Canario.

Tabla 8. Rangos de concentración metálica (min. – máx.) registrados para moluscos gasterópodos (lapas y burgados) en el Archipiélago Canario.

| Especie | Cd | Cu | Pb | Zn | Localidad | Referencia |
|-------------------------------|------------|------------|------------|-------------|---------------------------|------------------------------|
| <i>Patella</i> spp. | 0.09-7.54* | 0.10-15.2* | 0.50-6.36* | 0.33-48* | Sta. Cruz de Tenerife (T) | Díaz <i>et al.</i> , 1992 |
| <i>Patella</i> spp. | 0.01-2.08 | 0.7-13.56 | 0.05-1.67 | — | Gran Canaria | Collado <i>et al.</i> , 1999 |
| <i>Osilinus</i> spp. | 0.05-2.03 | 5.1-27.8 | 0.05-1.1 | — | | |
| <i>Osilinus atrata</i> | 0.49-2.92 | 3.92-25.36 | 0.32-3.61 | 14.90-57.60 | El Cabrón (GC) | Hernández, 2005 |
| <i>Patella rustica</i> | 0.1-21 | 0.1-5.01 | 0.33-3.4 | 0.14-33.23 | Canarias | **Ramírez, 2006 |
| <i>Patella candei crenata</i> | 0.08-5.39 | 0.71-6.73 | 0.01-0.55 | 11.31-72.54 | | |
| <i>Osilinus atrata</i> | 0.13-25.79 | 6.30-74.67 | 0.10-4.10 | 10.55-59.33 | Canarias | Este estudio |

*Datos expresados en $\mu\text{g g}^{-1}$ peso fresco. Resto de datos expresados en $\mu\text{g g}^{-1}$ peso seco. **Este estudio engloba los resultados publicados con algunas modificaciones por: Ramírez *et al.*, 2006; Collado *et al.*, 2006 y Bergasa *et al.*, 2007. T: Tenerife; GC: Gran Canaria.

En general, los moluscos gasterópodos son grandes acumuladores de Cu y Zn (Philips y Rainbow, 1994), como *Osilinus atrata* mostró tanto en este estudio como en otros previos en el Archipiélago (Tabla 8), o como otras especies de tróquidos (p. ej. *Monodonta* spp.) mostraron en distintas localidades (Nicolaidou y Nott, 1990, 1998; Campanella *et al.*, 2001; Cubadda *et al.*, 2001; Conti y Cecchetti, 2003). No obstante,

los altos niveles de dichos metales pueden variar ampliamente para las diferentes especies de tróquidos. Así, por ejemplo, se han observado concentraciones muy variables de Cu, tales como: 3.1-28.3 $\mu\text{g g}^{-1}$ p. s., *Monodonta turbinata* (isla de Favignana Sicilia, Cubadda *et al.*, 2001); concentraciones medias $> 50 \mu\text{g g}^{-1}$ p. s., *M. turbinata* (Golfo de Gaeta, Italia; Conti y Cecchetti, 2003); concentración de 26.4 $\mu\text{g g}^{-1}$ p. s., *Monodonta labio* (Hong Kong, Blackmore, 2001); 6.30-74.67 $\mu\text{g g}^{-1}$ p. s., *O. atrata* (este estudio). En el caso del Zn, las concentraciones para las mismas localidades fueron, respectivamente, las siguientes: 10.1-60.5 $\mu\text{g g}^{-1}$ p. s., *M. turbinata*; concentraciones medias $> 77 \mu\text{g g}^{-1}$ p. s., *M. turbinata*; concentración de 55.9 $\mu\text{g g}^{-1}$ p. s., *M. labio*; 10.55-59.33 $\mu\text{g g}^{-1}$, *O. atrata*. Esta observación confirma que la variabilidad metálica es grande en especies muy próximas; en este caso, éstas viven en hábitats (zona intermareal) y poseen formas de vida (sedentarios) similares.

Igualmente, los contenidos de Cu y Zn en los tróquidos presentan diferencias respecto a otros grupos de moluscos gasterópodos tales como los patélidos. En el Archipiélago, los primeros presentan mayor concentración de Cu que los segundos (Tabla 8). En el caso del Zn, los tróquidos presentaron concentraciones mínimas siempre superiores a 10 $\mu\text{g g}^{-1}$ p. s., mientras que en los patélidos éstas fueron mayoritariamente más bajas (Tabla 8). Estas diferencias entre ambos grupos de moluscos gasterópodos no parece una observación aislada para el Archipiélago, ya que se han encontrado patrones similares de acumulación en otras áreas geográficas ampliamente distanciadas. Así, en Hong Kong se encontró una concentración de Cu de 26.4 $\mu\text{g g}^{-1}$ p. s. para *Monodonta labio*, mientras que una de 3.96 $\mu\text{g g}^{-1}$ p. s. para *Patelloida pygmea* o de 5.71 $\mu\text{g g}^{-1}$ p. s. para *Patelloida saccharina* (Blackmore, 2001). Similarmente, en el Mediterráneo se registraron para *Monodonta mutabilis*

concentraciones de Cu mayores ($6.0-34.7 \mu\text{g g}^{-1}$ p. s.) que las registradas para *Patella caerulea* ($0.47-3.79 \mu\text{g g}^{-1}$ p. s.) o *Patella lusitanica* ($1.42-3.90 \mu\text{g g}^{-1}$ p. s.) (Cubbada *et al.*, 2001). En el caso del Zn, y también para el área mediterránea, las concentraciones mínimas encontradas para *M. turbinata* ($10.1-61.2 \mu\text{g g}^{-1}$ p. s.) y *M. mutabilis* ($10.7-40.4 \mu\text{g g}^{-1}$ p. s.) fueron mayores a $10 \mu\text{g g}^{-1}$ p. s., las cuales fueron mucho mayores que las registradas en *P. caerulea* ($2.2-19.1 \mu\text{g g}^{-1}$ p. s.) y *P. lusitanica* ($5.8-22.8 \mu\text{g g}^{-1}$ p. s.) (Cubbada *et al.*, 2001). Estos resultados parecen indicar que determinados grupos de moluscos gasterópodos, como los tróquidos y los patélidos, revelan diferencias en la capacidad acumulación del Cu y el Zn. En este sentido, se ha observado que los archaeogasterópodos (p. ej. *Patelloida* spp.) muestran concentraciones corporales bajas para dichos metales en comparación con los neogasterópodos (p. ej. *Thais* spp.), supuestamente debido a la ausencia del pigmento respiratorio hemocianina; los mesogasterópodos, particularmente *Monodonta labio*, a diferencia de los archaeogasterópodos mostraron un nivel mínimo para el requerimiento de hemocianina (Blackmore, 2001). En el Archipiélago Canario existe un representante equivalente de los neogasterópodos, este es *Stramonita haemastoma*, pero no podemos contrastar sus contenidos metálicos respecto a los otros grupos ya que, hasta ahora, éstos no han sido analizados. Por tanto, se puede afirmar que existe un patrón general de acumulación para determinados grupos de moluscos gasterópodos, el cual se mantiene constante espacialmente por encima de la variabilidad intraespecífica y la posible variabilidad ambiental de cada región.

Por otro lado, las concentraciones de Cu y Zn pueden variar para los moluscos gasterópodos según la posición que ocupen en la costa, como Gay y Maher (2003) registraron para *Bembicium nanum*, que mostró concentraciones más altas cuanto más

alejado del nivel bajo de la marea. Éstos atribuyen dicha variabilidad a las variaciones en la fuente de alimento, disponibilidad de alimento y tiempos de inmersión. Para el Archipiélago Canario, y siguiendo con las comparaciones entre grupos de moluscos gasterópodos, se observa que los tróquidos y los patélidos muestran diferencias significativas en su distribución vertical en la costa (ver el primer capítulo de esta tesis). Ya que todos los representantes de dichos grupos son herbívoros, se supone que las concentraciones metálicas en sus tejidos están influenciadas por los metales acumulados en las algas que éstos consumen. Concretamente, *Osilinus atrata* habita mayoritariamente en la zona intermareal media (ver también Ramírez *et al.*, 2005) y prefiere el alga verde *Enteromorpha muscoides* como alimento sobre una veintena de algas (Granado y Caballero, 2001). Sobre la dieta de las lapas no existen trabajos específicos; únicamente para *Patella candei candei*, que habita en la zona intermareal superior, se supone que se alimenta mayoritariamente de cianofíceas (algas verde-azules) (Aldanondo-Aristizabal *et al.*, 2003); sin embargo, no existe información sobre los contenidos metálicos de esta especie. Igualmente, los trabajos sobre los contenidos metálicos en algas son muy escasos y en estos no se han analizado las algas que se suponen son consumidas por los herbívoros citados (Collado *et al.*, 1999; Hernández, 2005). Por tanto, la posición en la costa y la variabilidad que esto introduce sobre otros factores (p. ej. alimento), debe ser tomada en cuenta en futuros trabajos sobre los contenidos metálicos de moluscos gasterópodos en el Archipiélago Canario.

El Cd y el Pb, como metales no esenciales, son tomados en relación a los niveles ambientales. *Osilinus atrata* mostró concentraciones muy variables para ambos metales en el Archipiélago Canario y respecto a las registradas para otras especies de tróquidos (Campanella *et al.*, 2001; Blackmore, 2001; Cubadda *et al.*, 2001; Conti y Cecchetti,

2003). Por ejemplo, las concentraciones más altas de Cd registradas para *O. atrata* en el Archipiélago ($\approx 25 \mu\text{g g}^{-1}$ p. s.) fueron significativamente mayores que las registradas para *Monodonta turbinata* y *Monodonta mutabilis* en la isla de Favignana (Sicilia, Mediterráneo), que mostraron unos rangos de concentración que variaron de 0.10 a 5.89 $\mu\text{g g}^{-1}$ p. s. y de 0.28-4.11 $\mu\text{g g}^{-1}$ p. s., respectivamente (Cubbada *et al.*, 2001). Del mismo modo, las concentraciones de Pb registradas para *O. atrata* (0.10-4.10 $\mu\text{g g}^{-1}$ p. s.) fueron mayores a las registradas para ambas especies de tróquidos ($< 1 \mu\text{g g}^{-1}$ p. s.; Cubbada *et al.*, 2001). Las concentraciones de Cd y Pb no tienen porqué ser más altas en lugares contaminados; de hecho, las concentraciones más altas de Cd para *O. atrata* en el Archipiélago se registraron en Punta Abades (Alegranza, AC), que está situada en una isla sin población y muy alejada de cualquier foco de contaminación. Además, Nicolaidou y Nott (1998) encontraron mayor concentración de Cd en las vísceras de *M. mutabilis* procedente de una localidad sin contaminación ($5.8 \pm 1.0 \mu\text{g g}^{-1}$ p. s.) que en aquellas de una contaminada ($3.0 \pm 1.1 \mu\text{g g}^{-1}$ p. s.).

Las concentraciones metálicas en *Osilinus atrata* mostraron una alta variabilidad espacial, aunque sólo el Cd y el Cu presentaron unos patrones espaciales determinados. Las concentraciones de Cd fueron significativamente más altas en las localidades situadas en las islas más orientales (AC, L y F) que en las occidentales (GC, T, G, P y H). Estas diferencias parecen estar relacionadas con la variabilidad oceanográfica presente en el Archipiélago Canario, la cual puede originar variaciones significativas en la biodisponibilidad metálica en la base de la red trófica y ascender los efectos a través de la cadena alimenticia (Ramírez *et al.*, 2006; Bergasa *et al.*, 2007). Se sabe que en el océano la concentración de Cd se relaciona con los nutrientes fosfatos y nitratos, presentando todos mayores concentraciones en aguas profundas que en la superficie

(Bruland, 1983). Sin embargo, la concentración de Cd puede incrementarse enormemente en las aguas superficiales en zonas de afloramiento costero “*coastal upwelling*” (Sañudo-Wilhelmy y Flegal, 1991; Segovia-Zavala *et al.* 1998). En este sentido, cualquier incremento en la biodisponibilidad de un metal pesado, tanto disuelto como en la dieta, causa un incremento en la proporción de toma de este metal en la biota (Rainbow, 2002; Daka, 2005). Precisamente, tróquidos (*Monodonta* spp.) muy similares a *O. atrata* son considerados eficientes acumuladores de Cd (Cubadda *et al.*, 2001). Por tanto, se sugiere que los altos valores de Cd registrados en este trabajo están relacionados con el proceso de afloramiento que tiene lugar en la costa noroeste africana. Este proceso trae aguas sub-superficiales frías y ricas en nutrientes a la superficie, extendiéndose hasta alcanzar las islas más orientales del Archipiélago (Llinás *et al.*, 1994; Pacheco y Hernández-Guerra, 1999; Davenport *et al.*, 2002). De hecho, se han registrado mayores concentraciones de Cd en las aguas superficiales que bañan las islas orientales que en las occidentales (Collado, 1995). Además, existen otras evidencias que asocian las concentraciones de Cd en la biota con este tipo de eventos, como los ocurridos en la costa oeste de Estados Unidos (California) y la costa noroeste africana (Marruecos) para diferentes especies de mejillones (Goldberg *et al.*, 1983; Banaoui *et al.*, 2004; Segovia-Zavala *et al.*, 2004). El gradiente de acumulación de Cd descendente desde las islas orientales hasta las occidentales también ha sido observado para *Patella rustica* y *P. candei crenata* (Ramírez *et al.*, 2006). Más aún, se ha observado, que de manera general en la costa sur de Portugal, *P. aspera* acumula mayores concentraciones de Cd que los mejillones, lo cual revela la predominancia de dicho metal por la fracción particulada en zona costera (Miguel *et al.*, 1999). En relación a la alta concentración de Cd registrada en Punta Cumplida (P), ésta pudo estar relacionada con las entradas en el mar de fertilizantes agrícolas, una de las mayores

entradas de Cd en el medio ambiente (ver Tabla 1). En esa zona de muestreo, en muchos casos en el borde costero, existían multitud de invernaderos dedicados al cultivo del plátano desde los cuales se producían filtraciones de aguas al mar debido a la porosidad del terreno volcánico. Cabe resaltar que el uso de fertilizantes en Canarias es muy alto (Notario del Pino y Díaz, 2001) y que probablemente éste sea mayor en las zonas costeras debido a las malas condiciones agrícolas del suelo (Marrero y Capote, 2001). De manera general, la toma de Cd puede incrementarse enormemente por la actividad de las bombas de calcio, la cual está favorecida ya que el Cd en forma de ión metálico libre tiene un radio iónico similar al del calcio (Ca); dichas bombas, pueden exhibir una gran actividad en moluscos con alta demanda fisiológica de Ca para la formación de la concha (Philips y Rainbow, 1994), como puede ser el caso de *O. atrata*. En el caso del Cu, las concentraciones fueron mayores en las localidades analizadas en las islas occidentales que en las orientales, es decir, un patrón espacial contrario al del Cd. En cambio, las concentraciones de Cu no parecen responder a un fenómeno espacial concreto, sino a un proceso de antagonismo¹ con el Cd, es decir, la alta concentración de Cd disminuye la toma de Cu por parte de los organismos. El fenómeno de antagonismo es común entre diferentes metales y especies (Luoma, 1983; Philips y Rainbow, 1994; Depledge *et al.*, 1998).

Un importante objetivo de este estudio fue la comparación de los niveles de concentración metálica encontrados en *Osilinus atrata* con los niveles máximos permitidos para moluscos de consumo humano. Mayoritariamente, las concentraciones de Cd y, sólo algunos ejemplares en el caso del Pb, superaron los límites permitidos

¹ De manera específica, para contrastar esta observación se comprobó mediante análisis de regresión la relación existente entre el Cd y el Cu. Así, se detectó una regresión significativa ($F = 54.47$, $p < 0.001$, $R^2 = 0.43$) y un coeficiente de correlación moderado ($r = -0.66$). Esta relación responde a un modelo de regresión lineal que presenta la siguiente ecuación: $\text{Log (Cd)} = 2.175 - 1.250 * \text{Log (Cu)}$.

para moluscos bivalvos (Reglamento (CE) N° 466/2001; Reglamento (CE) N° 221/2002). Estos resultados, especialmente para el Cd, han sido igualmente observados para moluscos de consumo humano (p. ej. lapas) en el Archipiélago Canario (ver tabla 8), o en otras regiones atlánticas o mediterráneas (p. ej. Catsiki *et al.*, 1991; Miguel *et al.*, 1999). El comité mixto de expertos FAO/WHO sobre los aditivos alimentarios establecen que la PTWI (Provisional Tolerable Weekly Intake) es de 7 µg de Cd y de 25 µg de Pb por Kg de peso corporal y semana (WHO, 1993). En Canarias, se ha estimado que la PTWI para el Cd es de 1.12 µg por Kg de peso corporal y semana, la cual está muy por debajo del límite establecido (Rubio *et al.*, 2006). Sin embargo, los moluscos gasterópodos (p. ej. burgados o lapas) no han sido considerados como entradas de Cd en la dieta (Rubio *et al.*, 2006) aun cuando la ingesta de éstos puede ser abundante y constante en muchas zonas de la islas, como refleja el marisqueo al que están sometidos (Ramírez *et al.*, 2008). Por tanto, la entrada de metales pesados dañinos para la salud como el Cd y Pb desde los moluscos deberá ser tomada en cuenta en los futuros estudios sobre la dieta en el Archipiélago Canario.

No existen muchos trabajos que hayan estudiado el efecto del sexo sobre las diferencias metálicas registradas en moluscos gasterópodos; en algunos de ellos se observaron diferencias entre sexos (p. ej. Marina y Enzo, 1983; Ahn *et al.*, 2002), mientras que en otros no se observaron tales discrepancias (p. ej. Gay y Maher, 2003). Las diferencias observadas parecen ocurrir mayoritariamente durante las estaciones reproductivas, es decir, cuando las gónadas están maduras (Marina y Enzo, 1983; Ahn *et al.*, 2002). En este caso, los ejemplares de *Osilinus atrata* fueron recolectados en una época de reproducción activa – aproximadamente un 80 % de los ejemplares poseían gónadas desarrolladas – lo que parece ha favorecido la aparición de diferencias entre

machos y hembras, las cuales se mantienen constantes para todo el Archipiélago. Así, los ejemplares macho de *O. atrata* presentaron mayor concentración de Cd y Zn que los ejemplares hembra, una concentración similar para el Pb pero una concentración más baja de Cu. Los ejemplares considerados neutros registraron concentraciones muy variables respecto a los ejemplares macho y hembra, lo que parece indicar su ausencia de diferenciación gonadal. Se sabe que las concentraciones metálicas varían entre los tejidos de los organismos (p. ej. Nicolaidou y Nott, 1990; Rayment y Barry, 2000; Ahn *et al.*, 2002; Cravo *et al.*, 2004); así, los cambios en el porcentaje de contribución de un tejido en el conjunto del cuerpo puede afectar a las concentraciones metálicas en el total del organismo. Ya que los ciclos biológicos internos varían de una época a otra se produce también una variabilidad estacional; sobre ésta pueden igualmente influir los cambios en la disponibilidad de metales en el ambiente del organismo (Van Roon, 1999). Por ejemplo, se ha observado que tras la época de freza, algunas especies sufren cambios en los niveles metálicos en sus tejidos (p. ej. Betzer y Pison, 1975; O'Leary y Breen, 1998). Para *O. atrata* se ha detectado que la concentración de Cd fue menor en octubre que en marzo en diversas localidades de GC (Collado, 1999; Hernández, 2005); este descenso puede estar relacionado con la época de freza, ya que ésta es máxima en noviembre (Nuñez, 1995) Sin embargo, este resultado podría no estar relacionado con la reproducción, sino con el crecimiento de un anillo en la concha, como Nicolaidou y Nott (1990) sugieren para *Monodonta* spp. Por tanto, sería importante estudiar como varían las concentraciones metálicas a lo largo de ciclo reproductivo de *O. atrata*, así como cuales son las diferencias entre las distintas partes corporales tales como las gónadas, el pie muscular y la concha.

Se sabe que la talla o el peso de los ejemplares son factores que influyen notablemente sobre los contenidos metálicos en los moluscos utilizados como biomonitores (p. ej. Cubbada *et al.*, 2001; Swaileh *et al.*, 2001; Conti *et al.*, 2008). Sin embargo, no se pudieron contabilizar sus influencias aquí debido, por un lado, al diseño de este estudio, que abarcó una gran variabilidad espacial, la cual generó ‘ruido de fondo’ sobre el efecto de tales parámetros, mientras que por otro lado, al número de ejemplares considerados, los cuales no fueron suficientes para realizar un análisis individual por cada localidad.

En relación a los resultados comentados y en comparación con otras especies de moluscos gasterópodos, *Osilinus atrata* parece presentar el mayor potencial como biomonitor de la contaminación metálica en las costas canarias. La capacidad de esta especie para detectar las tendencias espaciales en la biodisponibilidad metálica apoya su uso en estudios de monitoreo. Este resultado es similar al obtenido por Cubbada *et al.* (2001) para la zona Mediterránea, en la cual fue seleccionada el tróquido *Monodonta turbinata*. En este sentido, se sugiere que los tróquidos, los cuales presentan una amplia distribución mundial en las zonas costeras, podrían actuar como biomonitores cosmopolitas. No obstante, son necesarios estudios más profundos para clarificar los patrones actuales de acumulación de esta especie y cuales son los principales factores que afectan a los mismos.

5. REFERENCIAS

- Aguilera, F., Brito, A., Castilla, C., Díaz, A., Rodríguez, A., Sabaté, F. y Sánchez, J. 1994. *Canarias. Economía, ecología y medio ambiente*. La Laguna: Francisco Lemus, p. 361.
- Ahn, I-Y., Kim, K-W. y Choi, H. 2002. A baseline study on metal concentrations in the antarctic limpet *Nacella concinna* (Gastropoda: Patellidae) on King George Island: variations with sex and body parts. *Marine Pollution Bulletin*, 44: 421-431.
- Aldanondo-Aristizabal, N., Domínguez-Álvarez, S., Gil-Rodríguez, M. C. 2003. Diversidad algal asociada a *Patella candei candei* D'Orbigny, 1840, un lapa en peligro de extinción en la isla de Fuerteventura. *Boletín del Instituto Español de Oceanografía*, 19: 165-170.
- Amusan A. A. S., Anyaele O. O. y Lasisi A. A. 2002. Effects of copper and lead on growth, feeding and mortality of terrestrial gastropod *Limicolaria flammea* (Muller, 1774). *African Journal of Biomedical Research*, 5: 47-50.
- Axiak, V. y Schembri, J.L. 1982. Effects of temperature on the toxicity of mercury and cadmium to the littoral gastropod *Monodonta turbinata*. *Marine Pollution Bulletin*, 13 (11): 383-386.
- Baldwin, S., Deaker, M. y Maher, W. 1994. Low-volume microwave digestion of marine biological tissues for the measurement of trace elements. *Analyst*, 119: 1701-1704.
- Banoui, A., Chiffolleau, J. F., Moukrim, A., Burgeot, T., Daaya, A., Auger, D. y Rozuel, E. 2004. Trace metal distribution in the mussel *Perna perna* along the Moroccan coast. *Marine Pollution Bulletin*, 48: 378-402.

- Beach, L. M. 1989. Varian SpectrAA Zeeman graphite furnace methods for environmental samples. *Varian AA at Work*, nº 90: 1-15.
- Bergasa O., Ramírez R., Collado C., Hernández-Brito J.J., Gelado-Caballero M. D., Rodríguez-Somozas M. y Haroun R. J. 2007. Study of metals concentration levels in *Patella piperata* throughout the Canary Islands, Spain. *Environmental Monitoring and Assessment*, 127: 127-133.
- Berman, E. 1980. *Toxic metals and their analysis*. London: Heyden, p. 293.
- Betzer, S. B. y Pilson, M. E. Q. 1975. Copper uptake and excretion by *Busycon canaliculatum* L. *Biological Bulletin*, 148 (1): 1-15.
- Blackmore, G. 2001. Interspecific variation in heavy metal body concentrations in Hong Kong marine invertebrates. *Environmental Pollution*, 114: 303-311.
- Boyden, C. R. 1974. Trace element content and body size in molluscs. *Nature*, 251: 311-314.
- Boyden, C. R. y Phillips, D. J. H. 1981. Seasonal variation and inherent variability of trace elements in oysters and their implications for indicator studies. *Marine Ecology Progress Series*, 5: 29-40.
- Brown, R.J., Galloway, T.S., Lowe, D., Browne, M.A., Dissanayake, A., Jones, M.B. y Depledge, M.H. 2004. Differential sensitivity of three marine invertebrates to copper assessed using multiple biomarkers. *Aquatic toxicology*, 66: 267-278.
- Bruland, K. W. 1983. Trace elements in sea-water, in Riley, J. P. y Chester, R. *Chemical Oceanography. vol. 8*. London: Academic Press, p. 147-220.
- Bryan, G. W., Langston, W. J. y Hummerstone, L. G. 1980. *The use of biological indicators of heavy metal contamination in estuaries*. Occasional Publication nº 1. Marine Biological Association of United Kingdom: Plymouth (Devon, England), p. 73.

- Bryan, G. W., Langston, W. J., Hummerstone, L. G. y Burt, G. R. 1985. *A guide to the assessment of heavy-metal contamination in estuaries using biological indicators*. Occasional Publication nº 4. Marine Biological Association of United Kingdom: Plymouth (Devon, England), p. 92.
- Burton, J. y Statham, P. 1990. Trace metals in sea water, in Furness, W. y Rainbow, P. S. (ed.). *Heavy metals in marine environments*. Florida: CRC Press, p. 5-25.
- Campanella, L., Conti, M. E., Cubadda, F. y Sucapane, C. 2001. Trace metals in seagrass, algae and molluscs from an uncontaminated area in the Mediterranean. *Environmental Pollution*, 111: 117-126.
- Capodaglio, G., Barbante, C., Turetta, C., Scarponi, G. y Cescon, P. 1996. Analytical quality control: sampling procedures to detect trace metals in environmental matrices. *Mikrochimica Acta*, 123: 129-136.
- Catsiki, V. A., Papathanassiou, E. y Bei, F. 1991. Heavy metal levels in characteristic benthic flora and fauna in the central Aegean Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 22 (11): 566-569.
- Collado, C. 1995. *Voltametría adsorbtiva de redisolución catódica de alta velocidad aplicada a la determinación de cobre, cadmio, plomo y cinc en agua de mar. Distribuciones en aguas del Archipiélago Canario*. Tesis doctoral. Departamento de Química. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. p. 314.
- Collado, C. 1999. *Bioacumulación de metales pesados en moluscos gasterópodos (Patella spp. y Osilinus spp.) de consumo humano en la isla de Gran Canaria (BIOMOGA)*. Proyecto nº PI 1999/154. Las Palmas de Gran Canaria. p. 38.
- Collado, C., Gelado-Caballero, M. D., Herrera-Melián, J. A., Torres, M. E., Pérez-Peña, J. y Hernández Brito, J. J. 1999. Seasonal variation of aluminium and zinc

- content in *Cystoceira abies-marina*. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 73: 163-175.
- Collado, C., Ramírez, R., Bergasa, O., Hernández-Brito, J. J., Gelado-Caballero, M. D. y Haroun, R. J. 2006. Heavy metals (Cd, Cu, Pb and Zn) in two species of limpets (*Patella rustica* and *Patella candei crenata*) in the Canary Islands, Spain, in *Water Pollution VIII. Modelling, Monitoring and Management*. Brebbia, C. A. y Antunes do Carmo, J. S. (ed.). Southampton: WitPress, p. 45-53.
- Connell, D., Lam, P., Richardson, B. y Wu, R. 1999. *Introduction to ecotoxicology*. Oxford: Blackwell, p. 170.
- Conti, M. E. y Cecchetti, G. 2003. A biomonitoring study: trace metals in algae and molluscs from Tyrrhenian coastal areas. *Environmental Research*, 93: 99-112.
- Cravo, A., Bebianno, M. J. y Foster, P. 2004. Partitioning of trace metals between soft tissues and shells of *Patella aspera*. *Environmental International*, 30: 87-98.
- Conti, M. E., Iacobucci, M. y Cecchetti, G. 2005. A statistical approach applied to trace metal data from biomonitoring studies. *International Journal of Environment and Pollution*, 23: 29-41.
- Cubadda, F., Conti, M. E. y Campanella, L. 2001. Size-dependent concentrations of trace metals in four Mediterranean gastropods. *Chemosphere*, 45: 561-569.
- Daka, E. R. 2005. Heavy metal concentrations in *Littorina saxatilis* and *Enteromorpha intestinalis* from Manx Estuaries. *Marine Pollution Bulletin*, 50: 1433-1456.
- Davenport, R., Never, S., Helmke, P., Pérez-Moreno, J. y Llinás, O. 2002. Primary productivity in the northern Canary Islands region as inferred from seawifs imagery. *Deep Sea Research II*, 49: 3481-3496.

- De Pirro, M., Chelazzi, G., Borghini, F. y Focardi, S. 2001. Variations in cardiac activity following acute exposure to copper in three co-occurring but differently zoned Mediterranean limpets. *Marine Pollution Bulletin*: 42 (12): 1390-1396.
- De Wolf, H., Backeljau, T. y Blust, R. 2004. Sensitivity to cadmium along a salinity gradient in populations of periwinkle, *Littorina littorea*, using time-to-death analysis. *Aquatic toxicology*, 66: 241-253.
- Depledge, M. H., Weeks, J. M. y Bjerregaard, P. 1998. Heavy metals, in Calow, P. (ed). *Handbook of ecotoxicology*. Oxford: Blackwell, p. 543-569.
- Díaz, C., Galindo, L., García-Montelongo, F., Larrechi, M. S. y Rius, X. 1992. Trace metals in Limpets (*Patella sp*) from the Coast of Santa Cruz de Tenerife (Canary Islands). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 48: 55-62.
- Directiva 2000/60/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 18 de julio de 2000 por la que se establece un marco comunitario de actuación en el ámbito de la política de aguas.
- Directiva 2008/105/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 16 de diciembre de 2008, relativa a las normas de calidad ambiental en el ámbito de la política de aguas, por la que se modifican y derogan ulteriormente las Directivas 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE y 86/280/CEE del Consejo, y por la que se modifica la Directiva 2000/60/CE.
- EPA, 1996. Method 3052. Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices. p. 20.
- Feldstein, T., Kashman, Y., Abelson, A., Fishelson, L., Mokady, O., Bresler, V. y Erel, Y. 2003. Marine molluscs in environmental monitoring. III. Trace metals and

- organic pollutants in animal tissue and sediments. *Helgoland Marine Research*, 57: 212-219.
- Gay, D. y Maher, W. 2003. Natural variation of copper, zinc, cadmium and selenium concentrations in *Bembicium nanum* and their potential use as a bioindicator of trace metals. *Water Research*, 37: 2173-2185.
- George, S. G. 1990. Biochemical and cytological assessments of metal toxicity in marine animals, in Furness, W. y Rainbow, P. S. (ed.). *Heavy metals in marine environments*. Florida: CRC Press, p.123-141.
- GESAMP (IMO/FAO/UNESCO-IOC/WMO/WHO/IAEA/UN/UNEP Joint group of experts on the scientific aspects of marine environmental protection) and advisory committee on protection of the sea. 2001. *Protecting the oceans from land-based activities-land-based sources and activities affecting the quality and uses of the marine, coastal and associated freshwater environment*. Reports and Studies. GESAMP N°. 71, 162 pp.
- Goldberg, E. D., Koide, M., Hodge, V., Russel, A. y Martin, J. U. S. 1983. Mussel watch: 1977-1978 results on trace metals and radionuclides. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 16: 69-93.
- Gorski, J. y Nugegoda, D. 2006. Sublethal toxicity of trace metals to larvae of the blacklip abalone, *Haliotis rubra*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25 (5): 1360-1367.
- Granado, I. y Caballero, P. 2001. Feeding rates of *Littorina striata* and *Osilinus atratus* in relation to nutritional quality and chemical defenses of seaweeds. *Marine Biology*, 138: 1213-1224.
- Hansen, J. C. 1990. Human exposure to metal through consumption of marine foods: a case study of exceptionally high intake among Greenlanders, in Furness, W. y

- Rainbow, P. S. (ed.). *Heavy metals in marine environments*. Florida: CRC Press, p.227-243.
- Harrison, R. M. 1990. *Pollution causes, effects and control*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, p. 393.
- Helmers, E., Mart, L., Schulz-Baldes, M. y Ernst W. 1990. Temporal and spatial variations of lead concentrations in Atlantic surface waters. *Marine Pollution Bulletin*, 21 (11): 515-518.
- Hernández, M. P. 2005. *Estudio preliminar del contenido de metales en "Osilinus atratus": su potencialidad como biomonitorizador*. Trabajo tutelado. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. p. 82.
- Hopkin, S. P. 1998. *In situ* Biological monitoring of pollution in terrestrial and aquatic ecosystems, in Calow, P. (ed). *Handbook of ecotoxicology*. Oxford: Blackwell, p. 397-427.
- Iyengar, G. V., Subramanian, K. S. y Woittiez, J. R. W. 1998. *Element analysis of biological samples. Principles and practice*. Florida: CRC Press. p. 255
- Kahle, J., Clason, B. y Zauke, G. P. 2003. Sequential determination of Cd, Cu, Pb, Co and Ni in marine invertebrates by zeeman graphite furnace atomic absorption spectroscopy. *Varian AA at Work*, nº 129: 1-15.
- Langston, W. J. 1990. Toxic effects of metals and the incidence of metal pollution in marine ecosystems, in Furness, W. y Rainbow, P. S. (ed.). *Heavy metals in marine environments*. Florida: CRC Press, p.101-122.
- Langston, W. J. y Spence, S. K., 1998. Metal analysis, in Calow, P. (ed). *Handbook of ecotoxicology*. Oxford: Blackwell, p. 509-542.
- Laskowski, R. y Hopkin S. P. 1996. Effect of Zn, Cu, Pb and Cd on fitness in snails (*Helix aspera*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 34: 59-69.

- Laws, E. A. 1993. *Aquatic pollutions. An introductory text*. USA: John Wiley y Sons, Inc., p. 611.
- Liang, L. N., He, B., Jiang, G. B., Chen, D. Y. y Yao, Z. W. 2004. Evaluation of mollusks as biomonitors to investigate heavy metal contaminations along the chinese Bohai Sea. *The Science of The Total Environment*, 324: 105-113.
- Llinás, O., Rueda, M. J. y Pérez-Martell, E. 1994. Características termohalinas y nutrientes en aguas de las plataformas insulares canarias a finales de primavera. *Boletín Instituto Español de Oceanografía*, 10 (2): 177-189.
- Luoma, S. N. 1983. Bioavailability of trace metals to aquatic organisms – a review. *The Science of The Total Environment*, 28: 1-22.
- Marchán, S., Davies, M. S., Fleming, S. y Jones, H.D. 1999. Effects of copper and zinc on the heart rate of the limpet *Patella vulgata* L. *Comparative biochemistry and physiology*, 123: 89-93.
- Marina, M. y Enzo, O. 1983. Variability of Zinc and Manganese concentrations in relation to sex and season in the bivalve *Donax trunculus*. *Marine Pollution Bulletin*, 14: 342-346.
- Martin, M. y Richardson, B. J. 1991. Long term contaminant biomonitoring: views from southern and northern hemisphere perspectives. *Marine Pollution Bulletin*, 22 (11): 533-537.
- Martínez-González, M. A., De Irala, J. y Faulín, F. J. 2001. *Bioestadística amigable*. Madrid: Díaz de Santos, p. 500.
- Marrero, A. y Capote, J. 2001. La agricultura, en Fernández-Palacios, J. M. y Martín, J. (Dir. y Coord.). *Naturaleza de las Islas Canarias. Ecología y Conservación*. Santa Cruz de Tenerife: Turquesa, p. 263-268.

- Merian, E. (ed.). 1991. *Metals and their compounds in the environment. Occurrence, analysis and biological relevance*. Germany: VCH, p. 1438.
- Miguel, C. S., Machado, L. M. y Bebianno, M. J. 1999. Concentrações de Cd, Cu e Zn em Mexilhoes *Mytilus galloprovincialis* e Lapas *Patella aspera*, ao Longo da Costa Algarvia (Sul de Portugal). *Ecotoxicology and Environmental Restoration*, 2 (1): 1-6.
- Moody, J. R. y Lindstrom, R. M. 1977. Selection and cleaning of plastic containers for storage of trace element samples. *Analytical Chemistry*, 49: 2264-2267.
- Morales, S. 1997. Vertidos al mar. *Medio Ambiente Canarias*. Gobierno de Canarias, nº 5.
- Najle, R., Elissondo, M., Gentile, S., Gentile, M., Vacarezza, G. y Solana, H. 2000. Histopathology of the digestive gland of an Antarctic limpet. *The Science of the Total Environment*, 247: 263-268.
- Navarro, P. G., Ramírez, R., Tuya, F., Fernández-Gil, C., Sánchez-Jerez, P. y Haroun, R. J. 2005. Hierarchical analysis of spatial distribution patterns of patellid limpets in the Canary Islands. *Journal of Molluscan Studies*, 71: 67-73.
- Nicolaidou, A. y Nott, J. A. 1990. Mediterranean pollution from a ferro-nickel smelter: differential uptake of metals by some gastropods. *Marine Pollution Bulletin*, 21: 137-143.
- Nicolaidou, A. y Nott, J. A. 1998. Metals in sediments, seagrass and gastropods near a nickel smelter in Greece: possible interactions. *Marine Pollution Bulletin*, 36 (5): 360-365.
- Notario del Pino, J. y Díaz, R. 2001. Contaminación edáfica y de acuíferos, en Fernández-Palacios, J. M. y Martín, J. (Dir. y Coord.). *Naturaleza de las Islas*

- Canarias. Ecología y Conservación*. Santa Cruz de Tenerife: Turquesa, p. 311-315.
- Nuñez, J. (Dir.). 1995. *Estudio ecológico del mejillón y otros moluscos en la isla de Fuerteventura (moluscos de interés marisquero: mejillón, lapas y burgados)*. Departamento de Biología Animal (Universidad de La Laguna) y Cabildo de Fuerteventura. La Laguna, p. 150.
- O'Leary, C. y Breen, J. 1998. Seasonal variation of heavy metals in *Mytilus edulis*, *Fucus vesiculosus* and sediment from the Shannon estuary. *Biology and Environment: Proceedings of the Royal Irish Academy*, 98: 153-169.
- Orden SCO/3517/2006, de 13 de noviembre por la que se modifica la Orden de 2 de agosto de 1991, por la que se aprueban las normas microbiológicas, los límites de contenido en metales pesados y los métodos analíticos para la determinación de metales pesados para los productos de la pesca y de la acuicultura.
- Orozco, C., Pérez, A., González, M^a N., Rodríguez, F. y Alfayate, J. 2002. *Contaminación ambiental. Una visión desde la química*. Madrid: Thompson, p. 678.
- Pacheco M. M. y Hernández-Guerra A. 1999. Seasonal variability of recurrent phytoplankton pigment patterns in the Canary Islands area. *International Journal of Remote Sensing*, 20: 1405-1418.
- Philips, D. J. H. 1990. Use of macroalgae and invertebrates as monitors of metal levels in estuarine and coastal waters, in Furness, W. y Rainbow, P. S. (ed.). *Heavy metal in marine environments*. Florida: CRC Press, p. 81-99.

- Rainbow, P. S. 1990. Heavy metal levels in marine invertebrates, in Furness, W y Rainbow, P. S. S. (ed.). *Heavy metals in marine environments*. Florida: CRC Press, p. 67-79.
- Phillips, D. J. H. 1998. Bioaccumulation, in Calow, P. *Handbook of ecotoxicology*. (ed). Oxford: Blackwell, p. 895.
- Phillips, D. J. H. y Rainbow, P. S. 1994. *Biomonitoring of trace aquatic contaminants*. London: Chapman y Hall, p. 371.
- Puel, D., Zsürger, N. y Breittmayer, J. Ph. 1987. Statistical assessment of a sampling pattern for evaluation of changes in mercury and zinc concentrations in *Patella coerulea*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 38: 700-706.
- Rainbow, P. S. 1995. Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Marine Pollution Bulletin*, 31: 183-192.
- Rainbow, P. S. 2002. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what?. *Environmental Pollution*, 120: 497-507.
- Rainbow, P. S. y Philips, D. J. H. 1993. Cosmopolitan biomonitors of trace metals. *Marine Pollution Bulletin*, 26: 593-601.
- Ramírez, R. 2006. *Uso de moluscos gasterópodos como organismos indicadores en el Archipiélago Canario*. Diploma de Estudios Avanzados (DEA). Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. p. 132.
- Ramírez, R., Collado, C. Bergasa, O. Hernández, J. J. y Gelado, M. O. 2006. Gastropod molluscs as indicators of the cadmium natural inputs in the Canarian Archipelago (Eastern Atlantic Ocean), in Kungolos, A. G., Brebbia, C. A., Samaras, C. P. y Popov, V. (ed.). *Environmental toxicology* Southampton: WitPress, p. 203-211.

- Ramírez, R., Tuya, F., Sánchez-Jerez, P., Fernández-Gil, C., Bergasa, O., Haroun, R. J. y Hernández-Brito, J. J. 2005. Estructura poblacional y distribución espacial de los moluscos gasterópodos *Osilinus atrata* y *Osilinus sauciatus* en el intermareal rocoso de las Islas Canarias (Atlántico centro-oriental). *Ciencias Marinas*, 31: 697-706.
- Ramírez, R., Tuya, F. y Haroun, R. J. 2008. *El Intermareal Canario. Poblaciones de lapas, burgados y cañadillas*. BIOGES. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. p. 54.
- Rayment, G. E. y Barry, G. A. Indicator tissues for heavy metal monitoring-additional attributes. *Marine Pollution Bulletin*, 2000: 41(7-12): 353-358.
- Reglamento (CE) Nº 1881/2006 de la Comisión de 19 de marzo de 2006. Por el que se fija el contenido máximo de determinados contaminantes en productos alimenticios.
- Rubio, C., Gutierrez, A. J., Martín-Izquierdo, R. E., Revert, C., Lozano, G. y Hardisson, A. 2004. El plomo como contaminante alimentario. *Revista de Toxicología*, 21: 72-80.
- Rubio, C., Hardisson, A., Reguera, J. I., Revert, C., Lafuente, M. A. y González-Iglesias, T. 2006. Cadmium dietary intake in the Canary Islands, Spain. *Environmental Research*, 100: 123-129.
- Salomons, W. y Förstner, U. 1984. *Metals in the hydrocycle*. Berlin: Springer-Verlag. p. 349.
- Sañudo-Wilhelmy S. A. y Flegal R. A. Trace element distributions in coastal waters along the US-Mexican border boundary: relative contributions of natural processes vs. anthropogenic inputs. *Marine Chemistry*, 33: 371-392.

- Segovia-Zavala, J. A., Delgadillo-Hinojosa, F. y Alvarez-Borrego, S. 1998. Cadmium in the coastal upwelling area adjacent to the California-Mexico border. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 46: 475-481.
- Segovia-Zavala, J. A., Delgadillo-Hinojosa, F., Muñoz-Barbosa, A., Gutiérrez-Galindo, E. A., y Vidal-Talamantes, R. 2004. Cadmium and silver in *Mytilus californianus* transplanted to an anthropogenic influenced and coastal upwelling areas in the mexican northeastern pacific. *Marine Pollution Bulletin*, 48: 458-464.
- Siboni, N., Fine, M., Bresler, V. y Loya, Y. 2004. Coastal coal pollution increases Cd concentrations in the predatory gastropod *Hexaplex trunculus* and is detrimental to its health. *Marine Pollution Bulletin*, 49: 111-118.
- Swaileh, K. M., Rabay'a, N., Salim, R., Ezzughayyar, A. y Rabbo, A. 2001. Levels of trace metals and effect of body size on metal content of the landsnail *Levantina hierosylima* from the west bank-Palestine. *Journal of Environmental Science and Health*, A36 (7): 1373-1388.
- Van Roon, M. 1999. *Availability, toxicity and uptake of heavy metals by marine invertebrates. A review with reference to the Manukau Harbour, New Zealand.* Auckland, New Zealand: Department of Planning. Working Paper Series 99-2. p. 17.
- Vidarte, E. 2001. Pequeños productores de residuos peligrosos. *Medio Ambiente Canarias*. Gobierno de Canarias, nº 20.
- WHO. 1993. *Evaluation of certain additives and contaminants*. Forty-first report of the joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series 837. Geneva, Switzerland: WHO, p. 53.

Imposex y acumulación de compuestos orgánicos de estaño en poblaciones de *Stramonita haemastoma* de las Islas Canarias, España



Capítulo

4

1. INTRODUCCIÓN

Los compuestos orgánicos de estaño (*organotin compounds*) son sustancias químicas órgano-metálicas artificiales que poseen diversas aplicaciones industriales (Hoch, 2001; Omae, 2006). Particularmente, el tributilo de estaño o TBT (*tributyltin*) ha sido utilizado como un biocida efectivo durante décadas, mayoritariamente en pinturas anti-incrustantes (*antifouling*) para controlar el desarrollo de organismos sobre los cascos de los barcos (Readman, 2006; Fig. 1). El uso de este tipo de pinturas produce beneficios variados sobre las embarcaciones como facilitar el movimiento, ahorrar combustible, alargar los intervalos entre operaciones de mantenimiento y repintado, etc. (Champ, 2000; Fig. 1). Aunque el ritmo de liberación de los compuestos orgánicos de estaño desde los cascos de los barcos es muy lenta, su concentración puede incrementarse gradualmente año tras año en lugares con una alta cantidad de barcos como los puertos o marinas (Bech, 2002; Gómez-Ariza *et al.*, 2006; Omae, 2006). Su degradación ocurre principalmente por microorganismos (bacterias, algas y hongos), fotólisis (luz UV) e hidrólisis (Richard y Lillebo, 1988; Omae, 2006). Ésta es relativamente rápida en el mar, donde los compuestos orgánicos de estaño muestran vidas medias de diversos días o meses, mientras que, éstos pueden permanecer aproximadamente de 1 a 15 años en los sedimentos (Omae, 2006). Concretamente, el TBT puede ser retirado rápidamente de la columna de agua debido a su baja solubilidad y a su afinidad relativamente alta por la materia particulada, suministrando una ruta de entrada directa y potencialmente persistente en el sedimento (Richard y Lillebo, 1988; Langston y Pope, 1995; Hoch, 2001).

El TBT ha sido reconocido como una sustancia química tóxica para numerosos organismos marinos para los que no iba dirigida, especialmente para los moluscos

gasterópodos (Alzieu, 2000a). Entre sus efectos negativos destaca, por lo llamativo de las bajas concentraciones que lo provocan y su gran profusión, su actividad como disruptor hormonal (Oehlmann y Schulte-Oehlmann, 2003), la cual provoca la superimposición de caracteres masculinos (imposex), tales como el pene y el vaso deferente, en las hembras (Bryan *et al.*, 1987; Gibbs *et al.*, 1987; 1988). El primer registro de la masculinización de una hembra fue realizado por Blaber alrededor de 1970, no obstante, este hecho fue observado igualmente sobre diferentes especies de moluscos gasterópodos (visto en Bryan *et al.*, 1993). Así, el término “imposex” fue acuñado por Smith en 1971 (visto en Gibbs y Bryan, 1994), aunque no se demostró hasta unos años más tarde que este suceso no era una consecuencia del parasitismo, sino que éste era inducido por la exposición a compuestos orgánicos de estaño (Smith, 1980, 1981). Posteriormente, muchos estudios han mostrado que la incidencia y la intensidad del imposex varían inversamente con la distancia desde las fuentes de dichos compuestos, como por ejemplo, desde los puertos (p. ej. Spence *et al.*, 1990; Evans *et al.*, 1995, 1996; Rilov *et al.*, 2000; Bech, 2002; Fernández *et al.*, 2002; Santos *et al.*, 2004). De hecho, la alta especificidad del imposex lo ha convertido en una herramienta muy útil para valorar la contaminación por compuestos orgánicos de estaño. Así, el imposex ha sido detectado en más de 150 especies de moluscos gasterópodos alrededor de todo el mundo (Oehlmann y Schulte-Oehlmann 2003). Los efectos de los compuestos orgánicos de estaño sobre el humano no son bien conocidos, aunque éstos pueden producir determinados problemas cutáneos o respiratorios (Matsui *et al.*, 1999; Hoch, 2001; Antizar-Ladislao, 2008).



Figura 1. El crecimiento del *fouling*, es decir, material biológico indeseado tales como algas y sacabocacos, reducen la navegabilidad de los barcos (fotografía de la izq.). El uso de pinturas anti-incrustantes, en cambio, prolonga la conservación y facilitan el movimiento de los mismos (fotografía de la dcha.).

Desde que fueron descubiertos los efectos perjudiciales de las pinturas anti-incrustantes que contienen TBT sobre los ecosistemas acuáticos, se han establecido diferentes restricciones en diversos países. Así, a raíz del descenso acusado en la producción industrial de la ostra *Crassostrea gigas*, las primeras limitaciones se establecieron en Francia en 1982, donde se prohibió el uso de estas pinturas en barcos menores de 25 m (Alzieu *et al.*, 1989; Ruiz *et al.*, 1996; Alzieu, 2000b). Posteriormente, se implantaron regulaciones similares en otros países europeos (p. ej. Reino Unido o Noruega), los Estados Unidos, Canadá, Australia y Nueva Zelanda (Evans *et al.*, 1995). Una legislación común para toda la UE fue acordada hace pocos años (Reglamento-CE nº 782 / 2003). Más aún, la Organización Marítima Internacional (*IMO*) prohibió el uso de compuestos orgánicos de estaño perjudiciales en las pinturas anti-incrustantes usadas sobre los barcos en 2001, estableciendo que, ningún barco debería contener tales pinturas sobre su casco a partir de enero de 2008 (IMO, 2001). Debido al establecimiento de tales restricciones, los niveles de los compuestos orgánicos de estaño y el imposex han descendido en muchas localidades (p. ej. Evans *et al.* 1994; 1995;

Smith, 1996; Miller *et al.*, 1999; Rees *et al.*, 2001); sin embargo, las áreas portuarias, especialmente aquellas que poseen astilleros, o los lugares con un intenso tráfico marítimo, siguen manteniéndose como puntos calientes (*hotspots*) de imposex (p. ej. Minchin *et al.*, 1995; Morgan *et al.*, 1998; Evans y Nicholson, 2000; Shim *et al.*, 2000; Rees *et al.*, 2001; Bech, 2002; Gibson y Wilson, 2003). Este problema podría agravarse si los sedimentos, el principal reservorio de compuestos orgánicos de estaño, son movilizados por eventos tales como las tormentas o las operaciones de dragado (de Mora *et al.*, 1995; Macías-Carranza *et al.*, 1997; Evans y Nicholson, 2000; Santos *et al.*, 2004). Por otro lado, se ha estimado que el 70 % de la flota mundial utiliza aún pinturas anti-incrustantes basadas en TBT (Champ, 2000; Hoch, 2001). De hecho, diversos estudios han registrado imposex en nuevos lugares, sobre todo en la zona asiática donde muchos países carecen aún de regulación sobre el uso de dichas pinturas (Tan, 1999; Shim *et al.*, 2000; Bech, 2002).

En las últimas décadas, la población y la economía canaria han sufrido, a la par, un espectacular crecimiento. Los habitantes han aumentado hasta un 33 % en los últimos 20 años, mientras que el desarrollo de la economía ha sido causado principalmente por el sector turístico (ISTAC, www.gobiernodecanarias.org/istac/estadisticas.html). Así, las actividades comerciales, industriales y de ocio han aumentado notablemente en las zonas costeras, lo que ha supuesto la construcción de multitud de infraestructuras nuevas como puertos comerciales o deportivos. En este sentido, el tráfico marítimo total (p. ej. pasajeros, mercancías, etc.) también ha aumentado en las últimas décadas (ISTAC; www.puertosdetenerife.org; www.palmasport.es). De hecho, grandes buques (p. ej. buques cisterna, buques de carga, etc.) procedentes de Europa, África y América suelen

hacer escala en los puertos canarios, los cuales son utilizados también como base logística por barcos pesqueros asiáticos. A pesar de esta gran actividad marítima no existe ningún estudio sobre el imposex en el Archipiélago Canario (aunque Spence *et al.*, 1990 analizaron una localidad en Lanzarote). En este sentido, *Stramonita haemastoma* Linnaeus, 1766 – molusco gasterópodo ampliamente distribuido en las costas rocosas del Atlántico y del Mediterráneo – y otras especies muy próximas (p. ej. *Thais* spp.) han sido extensamente utilizadas como indicadoras de contaminación por TBT en diversas regiones del planeta (p. ej. Spence *et al.*, 1990; Horiguchi *et al.*, 1994; Tan, 1999; Rilov *et al.*, 2000; Shim *et al.*, 2000; Rees *et al.*, 2001; Fernández *et al.*, 2002; 2005; Gibson y Wilson, 2003; Stickle y Zhang, 2003; Limaverde *et al.*, 2007). Por tanto, los principales objetivos de este estudio fueron: (1) detectar la existencia de imposex sobre *S. haemastoma* en el Archipiélago Canario, determinando su extensión y severidad en relación a las fuentes de entrada de pinturas anti-incrustantes perjudiciales y (2) medir la concentración de compuestos orgánicos de estaño sobre dicho molusco gasterópodo, estableciendo así una línea base de datos.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Área de estudio y diseño muestral

Los muestreos fueron llevados a cabo en las islas de Tenerife, Gran Canaria y Lanzarote situadas en el Archipiélago Canario (Atlántico oriental), entre noviembre de 2006 y febrero de 2007 (Fig. 2; Tabla 1). Se seleccionaron un total de 13 localidades de sustrato rocoso, al menos 4 por isla, en donde el caracol *Stramonita haemastoma* estuviera disponible. Éstas fueron seleccionadas teniendo en cuenta la distancia (medida en Km) hasta la entrada de un puerto y el tamaño de este (pequeño, medio y grande) como se indica a continuación: (a) localidad dentro de un puerto de tamaño grande o

medio, (b) localidad cerca de un puerto de tamaño grande o medio y (c) localidad alejada de cualquier puerto (Tabla 1). Las zonas de muestreo situadas dentro los puertos se encontraban a distancias variables de la entrada (dependiendo de cada puerto); mientras que, aquellas situadas fuera estaban cerca o lejos a distancias que oscilaron de 0 a 3 Km ó > 3 Km, respectivamente. Por otro lado, el tamaño de los puertos se basó en longitud de la línea de atraque según los siguientes rangos: 100-1000 m y > 1000 m para puerto medio y grande, respectivamente; los puertos pequeños (< 100 m) no fueron considerados en este estudio. El tamaño de los puertos influyó significativamente en el tipo y volumen de sus actividades (Tabla 1). Este diseño permitió establecer una variación espacial en el efecto de los compuestos orgánicos de estaño sobre los organismos a lo largo de la costa; desde los puertos, considerados los mayores focos de entrada de tales compuestos, hasta lugares alejados supuestamente limpios. En este sentido, para conocer cual podría ser la extensión real del imposex en las costas canarias se elaboró una tabla mostrando todos los puertos y se indicaron sus localizaciones sobre un mapa (Fig. 2). Aunque los puertos en España se clasifican administrativamente (p. ej. puertos de titularidad estatal o autonómica), éstos fueron clasificados aquí según sus actividades, las cuales quedaban reflejadas por el tipo de barcos observados en los puertos, en tres categorías: (1) mercancías y pasajeros, (2) pesca y (3) recreo (Fig. 2).

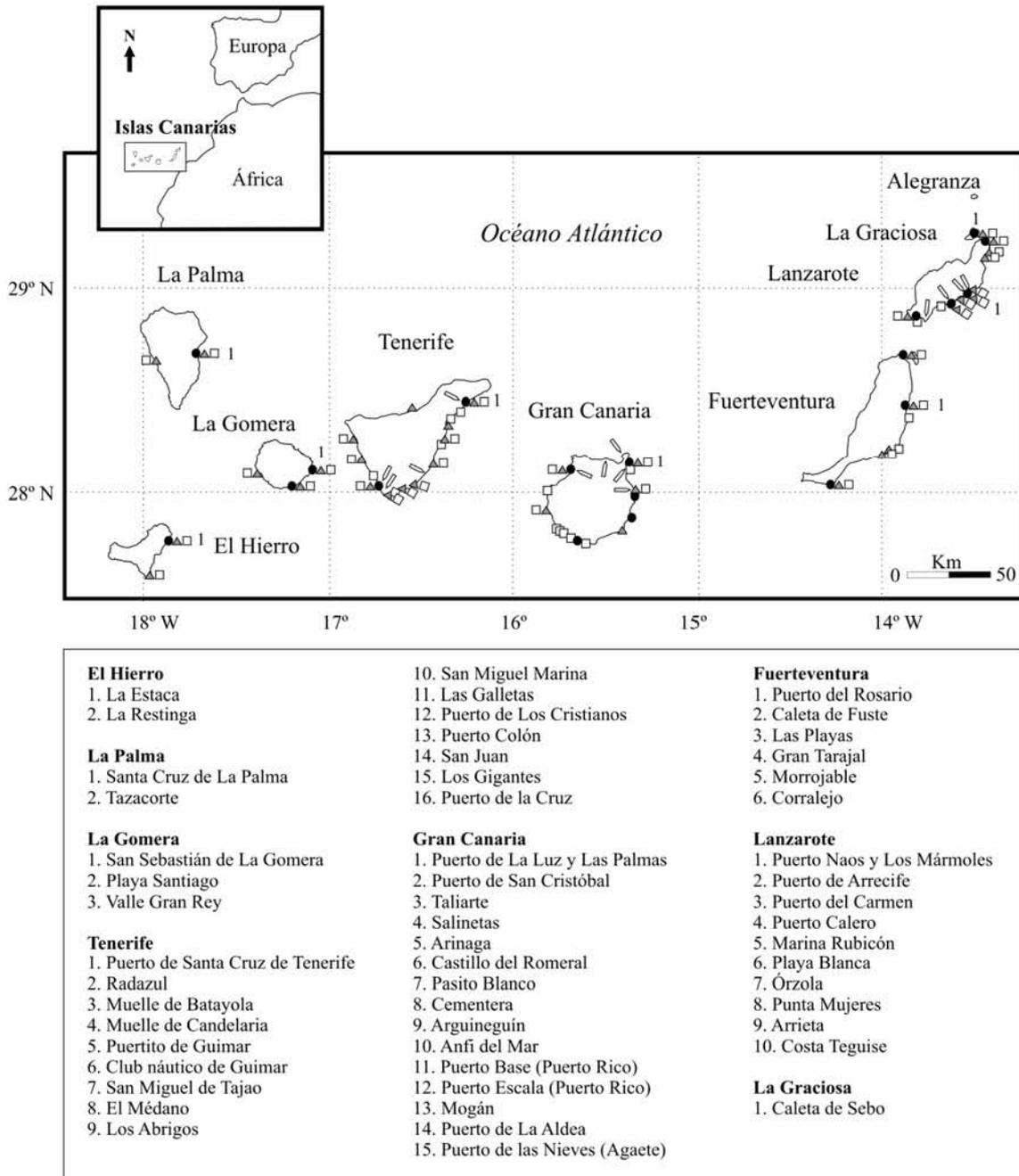


Figura 2. Mapa que muestra la localización de todos los puertos canarios dependiendo de su actividad (● Mercancías y/o pasajeros, ▲ Pesca, □ Recreo). El número 1 indica el puerto más importante en cada isla, el resto, en el sentido de las agujas del reloj, son nombrados debajo del mapa. La localización aproximada de las localidades de muestreo se indica con líneas ().

Tabla 1. Descripción de las localidades de muestreo.

| Isla | Localidad | Coordenadas UTM | | Información de la localidad | Tipo de hábitat |
|--|---|-----------------|--------------|--|-----------------|
| | | X | Y | | |
| Tenerife | | | | | |
| | ^a Puerto de Santa Cruz de Tenerife | 378.876,56 | 3.151.552,82 | Puerto comercial (incluyendo mercancías y pasajeros), de pesca y de recreo con astilleros. Existe una refinería de petróleo próxima. Abundan los barcos > 25 m. | RO / I |
| | ^a Puerto de Los Cristianos | 331.660,38 | 3.103.655,59 | Puerto comercial (incluyendo un barco de pasajeros > 25 m), de pesca y de recreo con facilidades para el mantenimiento. Los barcos son principalmente < 25 m. | R / S |
| | ^b El Palm-mar | 332.342,13 | 3.101.203,60 | Costa rocosa próxima al Pto. de Los Cristianos. Existen jaulas marinas próximas. | PR / I |
| | ^c Granadilla | 353.401,06 | 3.107.049,71 | Costa rocosa remota. Actualmente se construye un puerto para la zona industrial adyacente. | PR / I |
| Gran Canaria | | | | | |
| | ^a Puerto de Las Nieves (Agaete) | 430.291,86 | 3.108.275,45 | Puerto comercial (incluyendo un ferry de pasajeros > 25 m), de pesca y recreo con facilidades para el mantenimiento. Los barcos son mayoritariamente < 25 m. | PR / I |
| | ^b Taliarte | 463.898,05 | 3.096.368,95 | Costa rocosa anexa al puerto de Taliarte, el cual es un puerto pesquero, comercial y de recreo con facilidades para el mantenimiento. Los barcos son mayoritariamente < 25 m. | PR / I |
| | ^b El Castillo | 459.230,77 | 3.106.406,08 | Costa rocosa próxima al Pto. de la Luz y Las Palmas, el cual es el puerto comercial (incluyendo mercancías y pasajeros), de pesca y recreo con astilleros más grande de las Islas Canarias. Éste también incluye una base naval. Los barcos > 25 m son abundantes. | PR / I |
| | ^c El Confital | 457.253,21 | 3.116.183,59 | Costa rocosa remota. | PR / I |
| | ^c Bañaderos | 447.824,28 | 3.114.343,67 | Costa rocosa remota. Existe una planta desalinizadora próxima. | PR / I |
| Lanzarote | | | | | |
| | ^a Puerto Naos y Los Mármoles | 642.888,50 | 3.205.617,83 | Puerto comercial (incluye mercancías y pasajeros), de pesca y de recreo con astilleros. Abundan los barcos > 25 m. | PR / I |
| | ^a Puerto del Carmen | 629.157,03 | 3.200.007,25 | Puerto comercial (incluyendo un ferry de pasajeros ≈ 25 m), de pesca y recreo con facilidades para el mantenimiento. Los barcos son mayoritariamente < 25 m. | RP / I |
| | ^b Las Caletas | 644.467,73 | 3.206.310,87 | Costa rocosa próxima al Pto. Naos y Los Mármoles. Existe una planta desalinizadora. | PR / I |
| | ^c Papagayo | 617.836,95 | 3.192.082,85 | Costa rocosa-arenosa remota. Los barcos de recreo (< 25 m) son frecuentes en la zona. | PR / I |
| ^{a, b y c} clasificación de las localidades de muestreo según la distancia a la entrada de un puerto (ver explicación en el texto). Tipo de hábitat en el que se obtuvieron los ejemplares de <i>Stramonita haemastoma</i> : R: roca; RO: rompeolas; PR: plataforma rocosa; I: Intermareal; S: submareal. | | | | | |

2.2. Medida del imposex

En cada localidad de 10 a 33 ejemplares de *Stramonita haemastoma* fueron recolectados dependiendo del tamaño de la población (Tabla 2). Éstos fueron recolectados a mano caminando por la zona intermareal durante la marea baja o en la zona submareal (0.5-1.5 m) mediante buceo con gafas y tubo (*snorkel*) (ver Tabla 1). Los ejemplares fueron transportados al laboratorio y mantenidos congelados hasta el análisis. Se sabe que la congelación incrementa ligeramente la talla del pene tanto en machos y hembras de *Nucella lapillus* pero que no afecta al índice relativo de la talla del pene (RPSI) (Minchin y Davies, 1999); en cambio, observaciones preliminares sobre *Thais orbita* indican que la congelación no afecta a la talla del pene (visto en Gibson y Wilson, 2003). La talla de cada ejemplar (altura de la concha) fue medida con una aproximación de 0.1 mm usando calibradores Vernier. Las conchas fueron abiertas rompiéndolas para extraer los tejidos blandos, el manto fue cortado y doblado hacia atrás, procediendo así a la determinación del sexo en base a: (1) la presencia o ausencia de una glándula de ingesta de esperma oscura, la cual es un órgano femenino; (2) la presencia o ausencia de una glándula del albumen, la cual es otro órgano femenino situado inmediatamente en la parte posterior de la glándula de la cápsula; (3) la glándula de la cápsula en hembras o la glándula prostática en machos; (4) la longitud del pene que es normalmente más largo en machos que en hembras (Gibbs *et al.*, 1987, Spence *et al.*, 1990; Gibbs y Bryan, 1994). La longitud del pene en machos y en las hembras impuestas fue medido (precisión de 0.1 mm) bajo un microscopio binocular usando un ocular con rejilla graduada (Fig. 3). El grado de imposex en hembras fue expresado de diferentes maneras: (1) frecuencia de hembras impuestas, (2) índice del tamaño relativo del pene (RPSI) e (3) índice de la longitud relativa del pene (RPLI) (Bryan *et al.*, 1986; Gibbs *et al.*, 1987; Gibbs y Bryan, 1994). Los índices se definen como:

$$\text{RPSI} = \frac{(\text{longitud media del pene en hembras})^3}{(\text{longitud media del pene en machos})^3} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{RPLI} = \frac{\text{longitud media del pene en hembras}}{\text{longitud media del pene en machos}} \times 100 \quad (2)$$

La frecuencia de hembras impuestas es un buen indicador de la respuesta de imposex a bajas exposiciones ambientales, el segundo (RPSI) y el tercer índice (RPLI) son más adecuados para niveles altos y medios, respectivamente (Fernández *et al.*, 2002). Aunque el índice de la secuencia del vaso deferente (VDSI) no pudo ser calculado directamente ya que los ejemplares fueron congelados – sólo se observó en algunos ejemplares – éste fue calculado alternativamente utilizando los valores del RPSI, lo que permitió suministrar una estimación fiable de los valores de VDSI (Minchin *et al.* 1995; Lemghich y Benajiba, 2007). La fórmula utilizada fue la siguiente:

$$\text{VDSI} = \frac{(4.77 \times \text{RPSI})}{(1.22 + \text{RPSI})} \quad (3)$$

El VDSI es útil para demostrar la presencia de niveles bajos a moderados de TBT (Minchin *et al.*, 1995). Por último, también se calculó la proporción de sexos (macho / hembra) para cada localidad.



Figura 3. Para el estudio de los ejemplares de *Stramonita haemastoma* se utilizó un microscopio binocular (fotografía de la izq.). Detalle de un pene (señalado con una línea de puntos) sobre un ejemplar (fotografía de la dcha.).

2.3 Análisis de compuestos orgánicos de estaño

La determinación de estaño como TBT y DBT (Dibutilo de estaño, *Dibutyltin*) en los tejidos fue basada en los métodos empleados, y desarrollados a partir de otros previos, por Bryan *et al.* (1986). En este estudio se siguieron los siguientes pasos: (1) los tejidos de 4-6 ejemplares fueron agrupados y homogenizados con agua desionizada (existe alguna excepción, ver más abajo); (2) tres alícuotas de 0.5 g fueron colocados en tubos (*stoppered boiling tubes*), añadiendo un estándar de TBT (0.2 μg) a uno de los tubos y otro de DBT a otro tubo; (3) tras agitar brevemente, éstos fueron dejados durante 1-1.5 h, entonces se añadieron 5 ml de HCl a cada bote; (4) 30 min más tarde se añadieron 5 ml de hexano, colocando los tubos en un agitador automático durante 15 min; (5) tras la adición de 5 ml de agua destilada, los tubos fueron centrifugados durante 3 min a 20000 rpm; (6) para separar la fracción de DBT de la de TBT, el extracto claro de hexano fue extraído (500 μl) y agitado con una solución de NaOH (1N) en una

proporción de 1:1 (Fig. 4). El mismo procedimiento fue aplicado a los reactivos blancos.

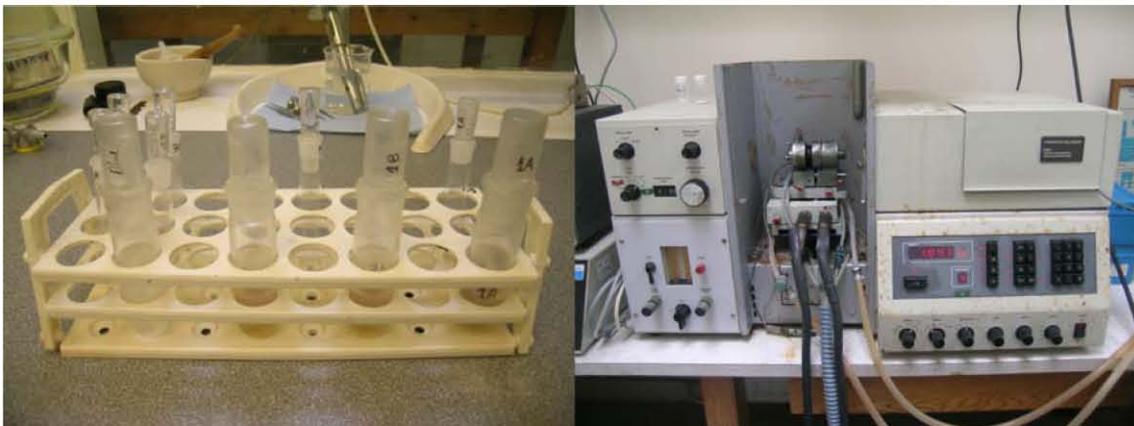


Figura 4. Una de las fases para la extracción de compuestos orgánicos de estaño (fotografía de la izq.). Espectrofotómetro de absorción atómica utilizado para medir los niveles de tales compuestos (fotografía de la dcha.).

La concentración de compuestos orgánicos de estaño fue medida usando espectrofotometría de absorción atómica (2280 Perkin Elmer – HGA 76B; Fig. 4). Se usó un tratamiento con pentóxido de tantalio para mejorar y extender la vida del tubo de grafito (Brooks *et al.*, 1981). Se utilizó una lámpara de estaño de descarga sin electrodos a una longitud de onda de 286 nm. Para determinar el estaño se utilizaron alícuotas de 50 μl de los extractos de hexano, a las cuales se aplicaron las siguientes condiciones: (1) secar a 150° C durante 20 s; (2) pulverizar a 1000° C durante 25 s; (3) atomizar a 2500° C durante 5 s con el gas cerrado. Se obtuvo un límite de detección que varió de 2 a 5 ng Sn g^{-1} peso seco. El procedimiento analítico fue validado mediante el análisis de un material de referencia (PACS 1, sedimento) certificado. Los valores registrados para TBT ($1.05 \pm 0.13 \text{ ng Sn g}^{-1}$ peso seco) y DBT ($0.89 \pm 0.25 \text{ ng Sn g}^{-1}$ peso seco) estuvieron en concordancia con los valores certificados para TBT ($1.27 \pm 0.22 \text{ ng Sn g}^{-1}$

¹ peso seco) y DBT ($1.16 \pm 0.18 \text{ ng Sn g}^{-1}$ peso seco), respectivamente. Además, el laboratorio (*Tracer Laboratory*, MBA) ha participado en ejercicios de intercalibración que no revelan desviaciones significativas con los valores aceptados.

2.4. Análisis estadístico

Los datos registrados sobre la talla y la longitud del pene para los ejemplares macho y hembra se compararon mediante intervalos de confianza (IC 95 %). Además, la relación existente entre ambos parámetros fue estudiada mediante análisis de regresión lineal; los datos se transformaron logarítmicamente cuando fue necesario, pudiendo asumir así normalidad para la distribución muestral (Martínez-González *et al.*, 2001). Por otro lado, todos los valores registrados de las concentraciones de TBT, DBT y el total de compuestos orgánicos de estaño (TOT) fueron agrupados, en cada caso, en tres grupos, según procedieran de localidades situadas dentro, cerca o lejos de los puertos. Así, se comprobó la existencia de diferencias significativas entre estos tres grupos mediante estadística no paramétrica (test de Kruskal-Wallis). Luego, el test de Mann-Whitney (Wilcoxon) fue llevado a cabo para determinar que conjuntos eran significativamente diferentes. El nivel de significación se situó en $p < 0.05$. Esta última técnica fue igualmente utilizada para comprobar si existían diferencias significativas en los niveles de compuestos orgánicos de estaño entre los ejemplares macho y hembra. Los análisis estadísticos fueron ejecutados mediante el uso del paquete estadístico STATGRAPHICS Plus 5.0 y la hoja de cálculo EXCEL (Microsoft Windows XP).

3. RESULTADOS

3.1 Talla y longitud del pene

En la tabla 2 se presentan las medidas registradas de talla y longitud del pene para los ejemplares macho y hembras impuestas en las localidades analizadas. Considerando el conjunto total de datos, los ejemplares macho (IC 95 % = 28.1-30.4) y hembra (IC 95 % = 28.8-34.1) presentaron tallas similares. Sus penes, en cambio, fueron más largos en los machos (IC 95 % = 5.0-5.7) que en las hembras (IC 95 % = 1.4-2.3). Ambos sexos también presentaron tallas similares (IC 95%) para cada localidad (Tabla 2).

Tabla 2. Medidas de la talla y la longitud del pene en *Stramonita haemastoma*.

| Isla | Localidad | n | Machos | | Hembras | |
|--------------|----------------------------------|----|-------------|-------------------|-------------|-------------------|
| | | | Talla | Longitud del pene | Talla | Longitud del pene |
| Tenerife | | | | | | |
| | Puerto de Santa Cruz de Tenerife | 20 | 19.8 ± 7.3 | 2.8 ± 1.8 | 21.9 ± 10.2 | 1.8 ± 1.2 |
| | Pto. de Los Cristianos | 14 | 23.3 ± 3.0 | 4.8 ± 1.9 | 25.2 ± 3.8 | 1.3 ± 0.6 |
| | El Palm-mar | 25 | 28.2 ± 1.9 | 4.3 ± 1.3 | 31.0 ± 3.5 | - |
| | Granadilla | 24 | 24.8 ± 2.8 | 4.8 ± 1.5 | 23.6 ± 1.7 | - |
| Gran Canaria | | | | | | |
| | Puerto de las Nieves (Agaete) | 27 | 28.2 ± 3.0 | 5.8 ± 1.4 | 29.4 ± 5.1 | 1.7 ± 0.5 |
| | Taliarte | 17 | 38.6 ± 3.4 | 3.6 ± 2.0 | 34.7 ± 7.8 | 2.8 ± 2.3 |
| | El Castillo | 19 | 35.5 ± 9.32 | 7 ± 2.4 | 35.3 ± 8.3 | 2.1 ± 0.7 |
| | El Confital | 23 | 26.0 ± 4.0 | 5.2 ± 0.9 | 23.4 ± 1.1 | - |
| | Bañaderos | 26 | 26.0 ± 1.7 | 4.8 ± 1.8 | 26.1 ± 2.25 | - |
| Lanzarote | | | | | | |
| | Puerto Naos y Los Mármoles | 10 | 49.8 ± 3.8 | 8.1 ± 2.9 | 50.4 ± 7.7 | 6.8 ± 2.1 |
| | Puerto del Carmen | 13 | 26.5 ± 3.5 | 4.9 ± 2.7 | 26.9 ± 3.5 | 1.1 ± 0.4 |
| | Las Caletas | 33 | 38.2 ± 4.2 | 7.4 ± 1.9 | 40.8 ± 4.3 | 0.5 ± 0.14 |
| | Papagayo | 26 | 29.9 ± 3.7 | 6.0 ± 0.7 | 30.6 ± 6.1 | - |

Talla = altura de la concha. Valores medios (mm ± DE).

Por otro lado, la relación entre la talla de los ejemplares y la longitud del pene fue positiva y de magnitud intensa ($r = 0.7$) para los machos; se encontró una regresión

significativa ($F = 159$, $p < 0.001$, $r^2 = 0.5$) la cual establece que el 50 % de la variabilidad total de la longitud del pene era explicada por la talla de los ejemplares. El modelo lineal que describía esta relación fue así: $Longitud\ del\ pene = -0.11 + 0.18 * Altura\ de\ la\ concha$. Para las hembras, la relación entre los parámetros mencionados fue también positiva y de magnitud moderada ($r = 0.4$); la regresión fue igualmente significativa ($F = 10.8$, $p < 0.01$, $r^2 = 0.17$) aunque ésta estableció que tan sólo el 17 % de la variabilidad total de la longitud del pene era explicada por la talla de los ejemplares. En este caso, el modelo lineal que explicaba esta relación fue como sigue: $Log\ (longitud\ del\ pene) = -0.61 + 0.03 * Altura\ de\ la\ concha$.

3.2 Imposex

El imposex fue evidente en *Stramonita haemastoma* aunque existieron notables diferencias en la frecuencia del mismo entre las localidades analizadas (Fig. 5). A pesar de esta variabilidad, la manifestación del imposex estuvo relacionada íntimamente con las áreas portuarias. Así, la frecuencia de hembras impuestas alcanzó el 100 % en 4 de las 5 localidades situadas dentro de los puertos (Fig. 5). En el Puerto de las Nieves (Agaete, GC) el imposex alcanzó el 93.3 %. En cambio, la incidencia del imposex disminuyó en las localidades próximas a puertos, donde varió de un 42.8 a 88.8 %; excepto en El Palm-mar (T) donde no se detectó imposex. Por último, los ejemplares de *S. haemastoma* recolectados a mayor distancia de las zonas portuarias no mostraron imposex (Fig. 5).

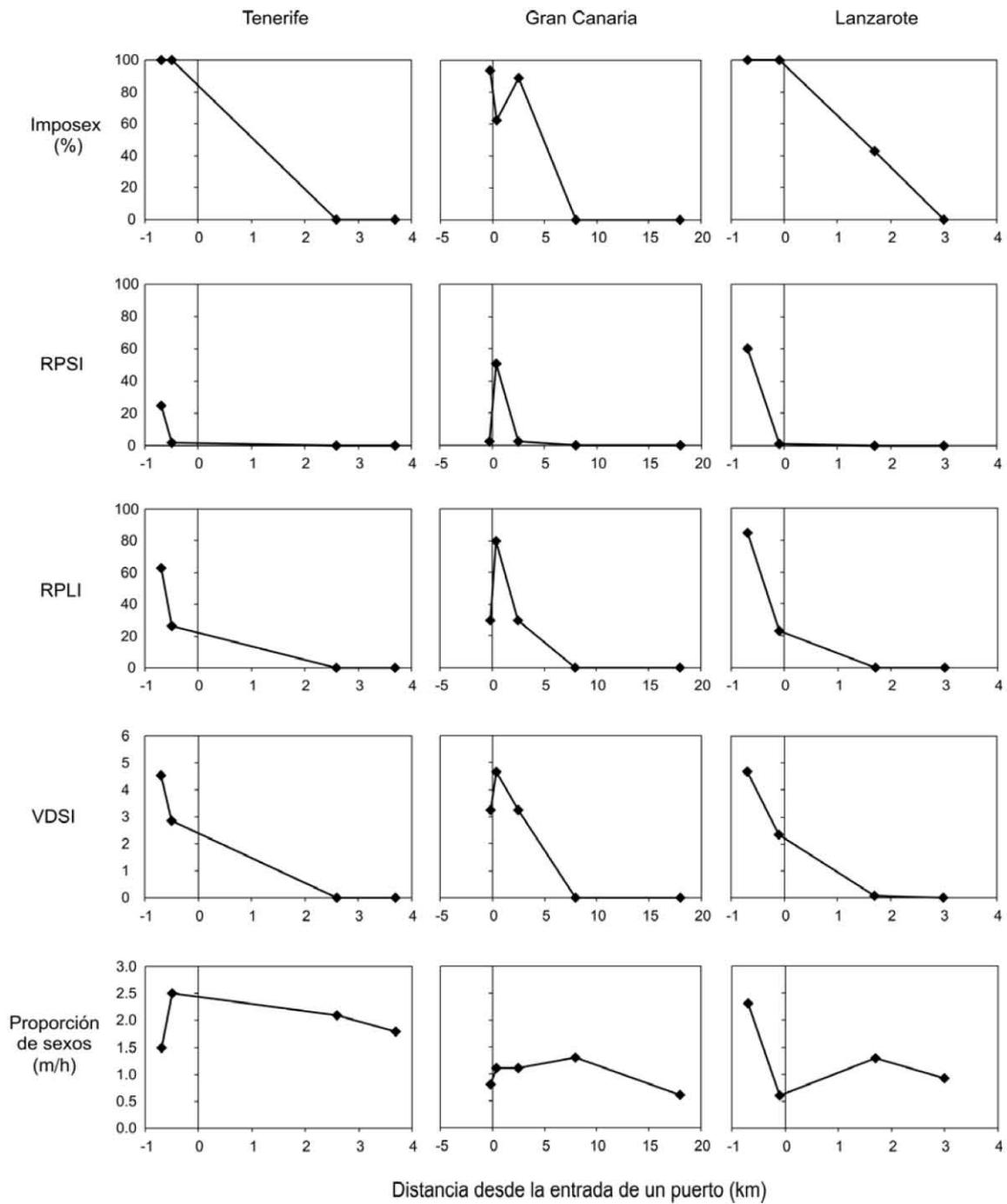


Figura 5. Índices de imposex, RPSI, RPLI, VDSI y proporción de sexos (m: machos; h: hembras).

Los niveles de RPSI y RPLI mostraron una gran variabilidad entre las localidades analizadas, oscilando de 0.02 a 60.4 y de 6.1 a 84.4, respectivamente (Fig. 5). No obstante, ambos índices presentaron un patrón similar, en el cual la tendencia fue descendente – menos evidente para el RPSI – desde las localidades situadas en el

interior de los puertos hasta aquellas situadas alejadas de los mismos en T y L (Fig. 5). El patrón observado en GC fue equivalente al anterior pero los mayores valores se registraron en Taliarte (localidad próxima a un puerto medio); también se detectó RPSI y RPLI en El Castillo (localidad próxima a un puerto grande) (Fig. 5). Los resultados inferidos del VDSI mostraron valores que oscilaron desde 0.1 a 4.7. Como información adicional, es importante señalar los resultados del VDSI observados directamente, que fueron: 3 ejemplares (estado 4) (El Castillo, GC); 1 (4) y 1 (6) (Agaete, GC); 2 (4), 1 (3) y 2 (2) (Taliarte, GC); 2 (4 o más desarrollado) (Pto. Naos y Los Mármoles, L); 2 (3) (Pto. del Carmen, L).

La proporción de sexos varió tanto de una localidad a otra como entre las islas (Fig. 5). En T, ésta fue siempre mayor de 1.5 y alcanzó un valor máximo de 2.5; en GC, los valores registrados estuvieron en torno a 1; mientras que en L, los valores observados fueron más variables, oscilando desde 0.6 hasta 2.3 (Fig. 5).

3.3 Concentración de compuestos orgánicos de estaño

Los niveles de TBT, su forma degradada DBT y el TOT presentaron, de manera general, una tendencia descendente desde los puertos hasta las localidades remotas en T y L; dicho patrón no fue observado en GC (Fig. 6). Las mayores concentraciones fueron encontradas en el Pto. de Santa Cruz de Tenerife (T; Fig. 6). Los niveles de TBT constituyeron un $86.6 \pm 13.1 \%$ (49.3-95.3 %, n = 13) y un $88.7 \pm 5.9 \%$ (79.5-93.6 %, n = 13) del total de compuestos orgánicos de estaño en machos y hembras, respectivamente (Fig. 6).

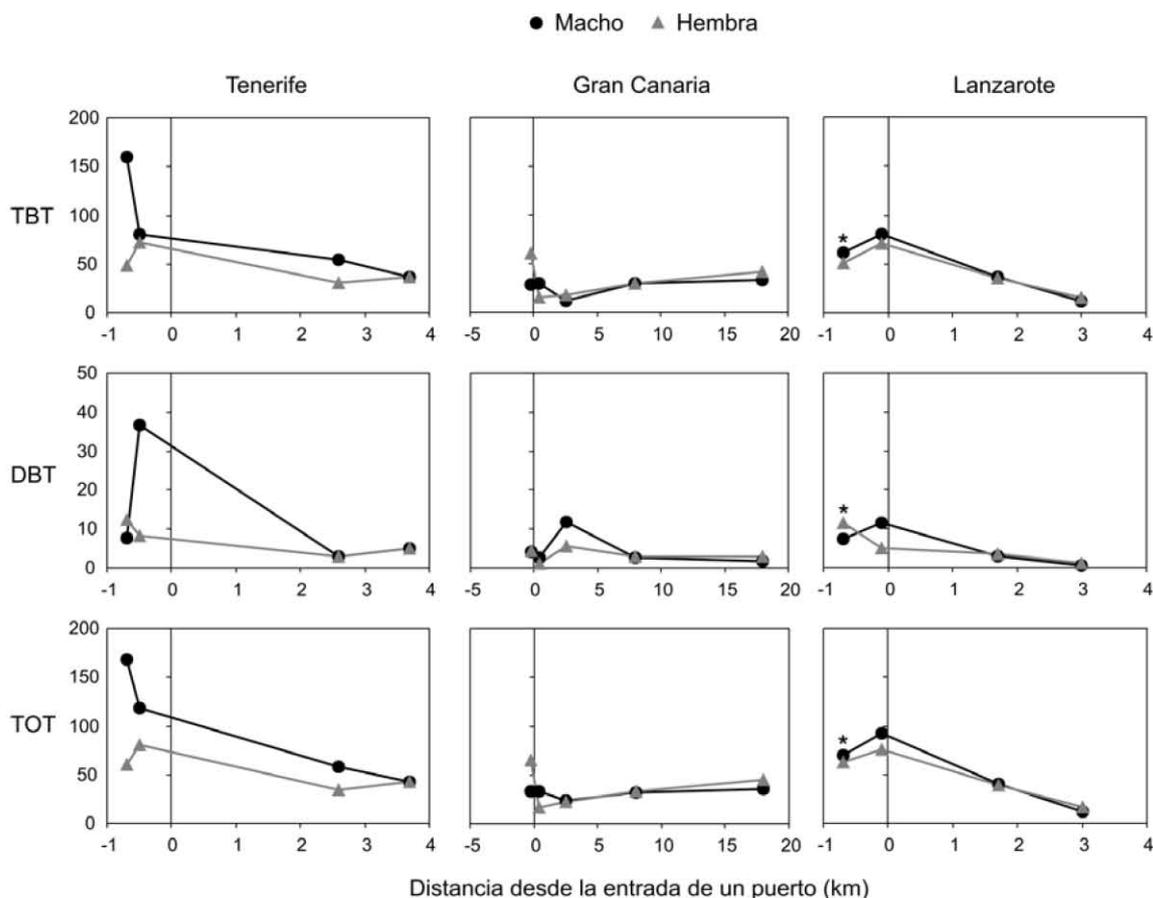


Figura 6. Concentración media (ng Sn g⁻¹ peso seco) de TBT, DBT y TOT para los ejemplares macho y hembra de *Stramonita haemastoma* en las diferentes localidades analizadas por isla. Los valores marcados con un asterisco (*) proceden de ejemplares analizados individualmente.

Las concentraciones de TBT, DBT y TOT registradas dentro, cerca o lejos de los puertos fueron diferentes significativamente en cada caso ($H = 29.41, p < 0.001$; $H = 11.84, p < 0.01$; $H = 32.28, p < 0.001$; test de Kruskal-Wallis, correspondientemente). Concretamente, las concentraciones de estos compuestos fueron mayores en las localidades situadas dentro de los puertos que aquellas situadas cerca o lejos de los mismos, las cuales fueron similares (Tabla 3).

Tabla 3. Resultados del test de Mann-Whitney (Wilcoxon) para la comparación entre los niveles de compuestos orgánicos de estaño en las localidades situadas dentro, cerca o lejos de los puertos.

| Grupos de comparación | TBT | DBT | TOT |
|-----------------------|----------|----------|----------|
| Dentro - Cerca | 53** | 140* | 42** |
| Dentro - Lejos | 35** | 109* | 28** |
| Cerca - Lejos | 161 (ns) | 134 (ns) | 157 (ns) |

Valores del test estadístico (W); ** = $p < 0.001$; * = $p \leq 0.01$; ns: no significativo

Las concentraciones de TBT ($W = 397$, $p = 0.26$), DBT ($W = 484$, $p = 0.91$) y TOT ($W = 411$, $p = 0.36$) fueron similares entre los ejemplares macho y hembra para el conjunto del estudio (test Mann-Whitney “Wilcoxon”), aunque se observaron algunas diferencias en determinadas localidades de T (Fig. 6). De igual forma, no se detectaron diferencias significativas entre ambos sexos para los ejemplares recolectados en localidades situadas dentro, cerca o lejos de los puertos (Tabla 4).

Tabla 4. Resultados del test de Mann-Whitney (Wilcoxon) para la comparación de los niveles de compuestos orgánicos de estaño en ejemplares macho y hembra en localidades situadas dentro, cerca o lejos de los puertos.

| Grupo | TBT | DBT | TOT |
|--------------|---------|-----------|---------|
| Dentro (♂-♀) | 62 (ns) | 71 (ns) | 58 (ns) |
| Cerca (♂-♀) | 34 (ns) | 39 (ns) | 27 (ns) |
| Lejos (♂-♀) | 33 (ns) | 56.5 (ns) | 44 (ns) |

Valores del test estadístico (W); ns: no significativo

4. DISCUSIÓN

Este estudio presenta la primera evidencia de imposex y contaminación por compuestos orgánicos de estaño en el Archipiélago Canario. Los resultados muestran claramente que *Stramonita haemastoma* está afectada por imposex y contiene generalmente niveles más altos de compuestos orgánicos de estaño en los puertos o en aquellas localidades próximas a ellos. Esta tendencia ha sido común tanto para *S. haemastoma* como para otros moluscos gasterópodos (p. ej. *Thais* spp.) en diversas regiones del mundo (p. ej. Spence *et al.*, 1990; Minchin *et al.*, 1995; Rilov *et al.*, 2000; Shim *et al.*, 2000; Rees *et al.*, 2001; Fernández *et al.*, 2002; Gibson y Wilson, 2003; Lemghich y Benajiba, 2007). Por un lado, este resultado confirma que los lugares con una gran actividad de barcos como los puertos, especialmente los que poseen astilleros, persisten como las mayores fuentes de contaminación de compuestos orgánicos de estaño. Particularmente, las pinturas anti-incrustantes aplicadas a los cascos de los barcos son aún la principal fuente de TBT, aunque el papel que juegan los sedimentos como reservorio es clave, ya que su movilización puede incluso liberar contaminación histórica (Evans y Nicholson, 2000). Por otro lado, la tendencia observada sugiere que el imposex es un problema localizado y que las restricciones sobre el uso de pinturas anti-incrustantes perjudiciales han sido efectivas (p. ej. Evans *et al.*, 1994, 1995; Evans y Nicholson, 2000), aunque existen aún algunas excepciones (p. ej. Tan, 1999; Bech, 2002). En cambio, los bajos niveles de imposex y contaminación en las costas abiertas han sido explicados por la alta eficiencia del transporte del agua (p. ej. mareas) y la dilución (p. ej. Minchin *et al.*, 1995; Rilov *et al.*, 2000; Shim *et al.*, 2000; Fernández *et al.*, 2002).

La incidencia del imposex fue del 100 % en 4 de las 13 localidades analizadas, la cual fue comparable con la observada en Azores, Marruecos y en el Golfo de Méjico – Florida; sin embargo, el imposex registrado en Brasil, Israel y Estepota estuvo tan bien desarrollado e incluso fue más pronunciado que el observado aquí (Tabla 5). Específicamente, en Papagayo (L) no se detectó imposex como Spence *et al.* (1990) observaron 20 años antes aproximadamente. No obstante, el número de barcos de recreo ha aumentado notablemente en dicha localidad en los últimos años debido a la construcción de una marina a pocos kilómetros de distancia. Esto producirá una serie de fuentes de contaminación que, sucesivamente, incrementarán los niveles de TBT. El valor máximo del RPSI (60.4) fue menor al registrado en Azores, Estepota, Israel y Brasil (Fortaleza); similar al observado en Brasil (Bahía de Guanabara) y en el Golfo de Méjico – Florida; y mayor al encontrado en Marruecos y en el Golfo de Méjico – Florida (Tabla 5). El valor máximo del RPLI (84.4) fue menor y similar al registrado en Bahía de Guanabara y Fortaleza (ambas en Brasil), respectivamente (Tabla 5).

Para el total del estudio y de manera específica para las localidades analizadas, tanto contaminadas como limpias, *Stramonita haemastoma* presentó tallas similares para los ejemplares macho y hembra. En cambio, Rilov *et al.* (2000) encontraron diferencias de talla entre los sexos (hembra > macho) de esta especie en una localidad altamente contaminada por TBT en Israel. Ellos supusieron que las hembras eran mayores como resultado de un crecimiento somático superior debido a la baja capacidad reproductora, aunque para confirmarlo deberían ser realizados más estudios teniendo en cuenta otros factores, como por ejemplo, las condiciones del hábitat (p. ej. disponibilidad de alimento). En relación a esto, se registró previamente que *S. haemastoma* presenta tallas menores en el Archipiélago en comparación con las

encontradas en Israel (Ramírez *et al.*, 2009). Esto parece indicar la presencia de multitud de factores, incluso características propias de cada región, que afectan a la talla de este molusco gasterópodo. Por otro lado, la longitud del pene en los machos fue mayor que en las hembras. La dependencia de determinados índices (p. ej. RPSI o RPLI) de la longitud del pene de los machos, la cual puede variar en relación a la talla, puede causar una sub- o sobre-estimación de éstos; debido a esta razón algunos autores aconsejan utilizar otros índices (p. ej. VDSI) (Tan, 1999; Bech, 2002). En este caso, la relación moderada entre la talla y la longitud del pene en machos y, como se indicó más arriba, la similitud de talla entre machos y hembras no parece afectar gravemente al uso de tales índices. Además de la talla deben existir otros factores que influyan sobre la longitud del pene, ya que un gran porcentaje de éste quedó sin explicación. En determinadas especies la estación de freza puede modificar la longitud del pene en machos (visto en Bech, 2002). En este estudio, este factor pudo no tener importancia ya que los ejemplares fueron recolectados entre noviembre y febrero, mientras que la estación de freza ocurre desde abril hasta agosto (Butler, 1985; Ramírez *et al.*, 2008). La longitud del pene de las hembras parece ser independiente de la talla, lo que sugiere que su uso puede ser una medida más sensible del imposex que otros índices con referencia al pene de los machos (*sensu* Tan, 1999). En relación a todo lo dicho anteriormente, son necesarios más estudios para comprender la ecología del imposex en profundidad.

Tabla 5. Resultados previos de imposex para *Stramonita haemastoma* en diferentes áreas geográficas.

| Localidad | Imposex (%) | RPSI | RPLI | VDSI | Proporción de sexos (machos / hembras) | Referencia |
|---------------------------|--|-------------------------------------|----------------------|--------------------------------------|--|--------------------------------------|
| Azores | 0-100 (4/11) | 0-76 | - | 0-5 | 0.23-1.5* | |
| Estepona (España) | 100-100 (2/2) | 6.3-81.7 | - | 4-5 | 0.33-0.75* | Spence <i>et al.</i> (1990) |
| Papagayo (Canarias) | 0 | 0 | - | 0 | 2.03* | |
| Israel | 25-100 (4/8) | 0.1-89.4 | - | ≈ 2.5-5 | 0.8-1.5 | Rilov <i>et al.</i> (2000) |
| Brasil† | 19-100 (11/16) 0-100 (6/10) | <0.01-125 0-61.7 | <0.1-107.6 0-82.8 | 0-6 0-5 | 0.75-17 0.42-2.57 | Fernández <i>et al.</i> (2002, 2005) |
| Golfo de Méjico-Florida†† | 30-80 (2/6) 85-100 (2/5) 5-100 (1/6) | ≈ 0.1-62.6 ≈ 1-4.6 ≈ 0.3-4.39 | - | ≈ 0.5-3.3 ≈ 1.8-2.8 ≈ 0.5-3.69 | 0.79-1.48 0.84-1.32 0.57-1.37 | Stickle y Zhang (2003) |
| Marruecos | 0-100 (1/3) | 0-50.87 | - | 0-4.66 | 1.4-2.74* | Lemghich y Benajiba (2007) |
| Brasil††† | - | - | - | 1.78-6 | - | Limaverde <i>et al.</i> (2007) |

Valores expresados en rangos: mín.-máx. También se muestra entre paréntesis el número de localidades con una frecuencia de imposex del 100 % respecto al número total de localidades analizadas. †: Datos procedentes de la Bahía de Guanabara y Fortaleza, respectivamente. ††: Datos registrados en 1988-89, 1993, 2000, respectivamente. †††: Datos para la Bahía de Guanabara. -: Sin datos; *: Valores inferidos; ≈: Valores aproximados.

Los ejemplares hembra de *Stramonita haemastoma* son masculinizados, esterilizados (estado 5; Spence *et al.*, 1990), y entonces mueren cuando el vaso deferente crece encima de la vulva impidiendo la liberación de las cápsulas de huevos. Estas esterilizaciones irreversibles y mortalidades selectivas pueden causar una proporción de sexos no balanceada. No obstante, la esterilización puede tener un menor impacto ecológico en *S. haemastoma* que sobre otras especies (p. ej. *Nucella lapillus*) debido a la afluencia potencial de larvas (Spence *et al.*, 1990; Rilov *et al.*, 2000). De

hecho, *S. haemastoma* podría ser reclutada en un área contaminada desde otras áreas limpias, ya que ésta posee un estado planctónico como larva veliger que puede persistir varios meses (Butler, 1985). La proporción de sexos para *S. haemastoma* fue muy variable (0.5-2.5), como se observó en otros estudios (ver Tabla 5). Ésta fue mayoritariamente no balanceada – los machos fueron más abundantes que las hembras – y mostró valores máximos en dos localidades dentro de los puertos. Además de la incidencia del imposex deben existir otros factores (p. ej. ambientales, genéticos, etc.) que influyan sobre la proporción de sexos, ya que ésta fue incluso alta en poblaciones no afectadas (p. ej. T). Aunque el VDSI no fue observado directamente en este estudio (exceptuando algunos ejemplares), los valores inferidos son comparables a los registrados en el resto de localidades señaladas más arriba (ver tabla 5). Los valores más altos del VDSI fueron registrados en áreas portuarias, como en el Puerto de Santa Cruz de Tenerife (4.5) y en Puerto Naos y Los Mármoles (4.7), o en zonas muy próximas a éstas como Taliarte (4.7). Sin embargo, la buena circulación de las aguas y la dilución en las costas abiertas, incluso en algunas áreas portuarias, parece provocar una disminución notable de la severidad del imposex. En las Islas Canarias las mareas alcanzan un rango de 3 m y ocurren dos veces al día (Ramírez *et al.*, 2008). Además, existen otros factores que pueden limitar el desarrollo del imposex en el Archipiélago, como por ejemplo: (1) una alta insolación, lo que probablemente provoca una degradación más alta de los compuestos orgánicos de estaño y (2) una escasa acumulación de sedimentos en la zona costera, lo que limita la acumulación de dichos compuestos; la ausencia de ríos como suministradores de sedimentos o la corta plataforma costera (esto es, fondos profundos cerca de la costa) pueden ser características influyentes sobre dicha acumulación.

La población de *Stramonita haemastoma* con el mayor desarrollo de imposex fue la analizada en Puerto Naos y Los Mármoles (L), la cual se encontraba en franca recesión y probablemente desaparezca en un futuro próximo. Ésta posee las características de una población en declive: (1) una escasez general de ejemplares, (2) no existe evidencia de actividad reproductora y (3) todos los supervivientes parecen viejos, machos en su mayoría (Gibbs y Bryan, 1994; ver Fig. 5 y Tabla 5). El Puerto de Naos y Los Mármoles están situados en una bahía de poca profundidad donde la circulación del agua está enormemente reducida, debido quizá a su propia configuración; esto ha favorecido la acumulación de sedimentos y así, seguramente, la acumulación de compuestos orgánicos de estaño a lo largo de los años. Además, la dirección de las corrientes predominantes ha limitado posiblemente la introducción de reclutas desde la parte externa del puerto. Ni siquiera el corto tiempo de maduración de *S. haemastoma* (8-12 meses; Butler, 1985) ha sido suficiente para contribuir a la producción reproductiva de las poblaciones, ya que la expresión del imposex también es rápida en los juveniles (Spence *et al.*, 1990). Se debe tener en cuenta también que las poblaciones de *S. haemastoma* presentan densidades más bajas en el Archipiélago Canario que en áreas continentales (Ramírez *et al.*, 2009). Puesto que el imposex no puede volver a la condición normal, su presencia en los ejemplares antiguos representa los niveles de TBT de los años previos al muestreo. En este sentido, una gran proporción de la contaminación puede proceder de aquella acumulada en los sedimentos – situados a poca profundidad – los cuales pueden ser removidos por tormentas, dragados, hélices de barcos, etc. Más aún, la degradación de los compuestos orgánicos de estaño es peor en los puertos debido a la alta turbidez (Macías-Carranza *et al.*, 1997).

A pesar de la presencia de otras poblaciones de *Stramonita haemastoma* que mostraron un alto porcentaje de imposex y altos valores del VDSI, como aquella observada en el Puerto de Santa Cruz de Tenerife, éstas no se encontraban en declive. Probablemente, una mejor circulación de las aguas, una entrada de reclutas desde zonas externas, una baja movilidad del sedimento (debido posiblemente a una mayor profundidad del fondo), etc., favorecen la subsistencia de estas poblaciones. Aún son necesarios más trabajos para desvelar estas hipótesis; aquellos que incluyan transplantes de ejemplares desde hábitats naturales hasta localidades contaminadas son importantes, ya que son de utilidad para conocer la evolución del imposex e interpretar la relación entre las dinámicas poblaciones y la contaminación de TBT (p. ej. Quintela *et al.*, 2000; Shim *et al.*, 2000).

Las concentraciones de compuestos orgánicos de estaño registradas en *Stramonita haemastoma* fueron similares a las encontradas en la costa oeste del Océano Atlántico (Brasil; Limaverde *et al.*, 2007). Éstas fueron, sin embargo, mayoritariamente menores que las registradas en el Mediterráneo (Israel; Rilov *et al.* 2000). El TBT mostró un predominio notable sobre el DBT con respecto al TOT. Esto parece estar relacionado con el grado de novedad de las entradas de TBT y la proximidad de las fuentes (Tolosa *et al.* 1996; Gómez-Ariza *et al.*, 2006; Ruiz *et al.* 1998). Los ejemplares macho y hembra presentaron niveles similares de compuestos orgánicos de estaño, como Bryan *et al.* (1993) detectaron para *Nassarius reticulatus*. En cambio, Horiguchi *et al.* (1994) observaron que la concentración de TBT fue generalmente mayor en los ejemplares hembra que en los macho para *Thais clavigera* y *Thais bronni*; ellos sugirieron que este hecho podía ser provocado por las diferencias de acumulación de TBT entre los órganos reproductores femeninos y masculinos. En este caso, los

ejemplares de *S. haemastoma* fueron recolectados en una época no reproductora, en la cual posiblemente las gónadas no estaban bien desarrolladas, lo que podría explicar la ausencia de diferencias entre sexos. Por otro lado, se sabe que el imposex es frecuentemente inducido a bajas concentraciones de TBT. Diversos autores han suministrado los niveles límite de la inducción de imposex en algunas especies, como por ejemplo: $< 20 \text{ ng Sn g}^{-1}$ peso seco para *Nucella lapillus* (Gibbs *et al.*, 1987), $< 10 \text{ ng TBT g}^{-1}$ peso seco para *Thais clavigera* (Shim *et al.*, 2000), 10-20 ng TBT g^{-1} peso húmedo para *Thais clavigera* (Horiguchi *et al.*, 1994) y *Thais distinguisheda* (Bech *et al.*, 2002) ó 20 ng TBT g^{-1} peso húmedo para *Stramonita haemastoma* (Limaverde *et al.*, 2007). No obstante, se han registrado diferencias en las respuestas biológicas al TBT entre diferentes especies de moluscos gasterópodos (Stroben *et al.*, 1992; Barroso *et al.*, 2000; Ten Hallers-Tjabbes *et al.*, 2003; Gómez-Ariza *et al.*, 2006). También se han observado diferencias en la expresión del imposex entre poblaciones de la misma especie (p. ej. Ruiz *et al.*, 1998), las cuales parecen estar causadas por diferencias genéticas (Gibbs, 1993; Gibbs y Bryan 1996; Oehlmann *et al.*, 1996). En este sentido, *S. haemastoma* mostró una gran variabilidad en la expresión del imposex de una localidad a otra. Probablemente, diversos factores originaron esta variabilidad, los cuales deberían ser examinados en futuros estudios. Además, un aspecto preocupante del desarrollo del imposex como indicador biológico de la contaminación de TBT es que ésta puede no ser la única causa (Ellis, 1991; Evans y Nicholson, 2000).

En resumen, este estudio ha detectado imposex en *Stramonita haemastoma* debido a la contaminación de TBT. Aunque éste parece un suceso localizado, el alto número de puertos a lo largo de las costas canarias y la nueva construcción de otros – los cuales, a su vez, incrementarán los niveles de TBT considerablemente – podrían

tener consecuencias ambientales severas. De hecho, como se ha indicado en otras regiones insulares (Bech, 2002), una de las razones que podría explicar la extensión del imposex y probablemente su incremento en el Archipiélago Canario en los últimas décadas parece ser el gran desarrollo turístico y económico, el cual ha provocado un aumento considerable en el número de barcos de todo tipo. Además, se ha observado imposex tanto en los puertos frecuentados por barcos pequeños (< 25 m) como en aquellos en donde hay abundantes buques grandes (> 25 m). Por tanto, y como se ha indicado a lo largo del estudio, son necesarios más trabajos que profundicen sobre la extensión y el desarrollo del imposex, así como sobre los niveles de contaminación por compuestos orgánicos de estaño en el medio ambiente. Finalmente, los resultados de este estudio destacan la necesidad de revisar si la legislación sobre el uso de pinturas anti-incrustantes está siendo cumplida y si ésta es efectiva para controlar las entradas de TBT.

5. REFERENCIAS

- Antizar-Ladislao, B. 2008. Environmental levels, toxicity and human exposure to tributyltin (TBT)-contaminated marine environment. A review. *Environment International*, 34: 292-308.
- Alzieu, C. 1989. Monitoring and assessment of butyltins in Atlantic coastal waters. *Marine Pollution Bulletin*, 20(1): 22-26.
- Alzieu, C. 2000a. Impact of tributyltin on marine invertebrates. *Ecotoxicology*, 9: 71-76.
- Alzieu, C. 2000b. Environmental impact of TBT: the French experience. *The Science of the Total Environment*, 258(1-2): 99-102.
- Barroso, C. M., Moreira, M. H. y Gibbs, P. E. 2000. Comparison of imposex and intersex development in four prosobranch species for TBT monitoring of a southern European estuarine system (Ría de Aveiro, NW Portugal). *Marine Ecology Progress Series*, 201: 221-232.
- Bech, M. 2002. Imposex and tributyltin contamination as a consequence of the establishment of a marina, and increasing yachting activities at Phuket Island, Thailand. *Environmental Pollution*, 117: 421-429.
- Bech, M., Strand, J. y Jacobsen, J. A. 2002. Development of imposex and accumulation of butyltin in the tropical muricid *Thais distinguenda* transplanted to a TBT contaminated site. *Environmental Pollution*, 119: 253-260.
- Brooks, R. R., Ryan, D. E. y Zhang, H. F. 1981. Use of a tantalum-coated graphite furnace tube for the determinations of arsenic by flameless atomic absorption spectrometry. *Atomic Spectroscopy*, 2: 161-162.
- Bryan, G. W., Burt, G. R., Gibbs, P. E. y Pascoe, P. L. 1993. *Nassarius reticulatus* (Nassariidae: Gastropoda) as an indicator of tributyltin pollution before and

- after TBT restrictions. *Journal of Marine Biological Association of United Kingdom*, 73: 913-929.
- Bryan, G. W., Gibbs, P. E., Burt, G. R. y Hummerstone, L. G. 1987. The effects of tributyltin (TBT) accumulation on adult dog-whelks, *Nucella lapillus*: long-term field and laboratory experiments. *Journal of Marine Biological Association of United Kingdom*, 67: 525-544.
- Bryan, G. W., Gibbs, P. E., Hummerstone, L. G. y Burt, G. R. 1986. The decline of the gastropod *Nucella lapillus* around south-west England: evidence for the effect of tributyltin from the antifouling paints. *Journal of Marine Biological Association of United Kingdom*, 66: 611-640.
- Butler, P. A. 1985. Synoptic review of the literature on the southern oyster drill *Thais haemastoma floridana*. N.O.A.A. Technical report NMFS, 35: 1-9.
- Champ, M. A. 2000. A review of organotin regulatory strategies, pending actions, related costs and benefits. *The Science of the Total Environment*, 258: 21-71.
- de Mora, S. J., Stewart, C. y Phillips, D. 1995. Sources and rate of degradation of Tri(n-butyl)tin in marine sediments near Auckland, New Zealand. *Marine Pollution Bulletin*, 30: 50-57.
- Ellis, D. V. 1991. New dangerous chemicals in the environment: lessons from TBT. *Marine Pollution Bulletin*, 22(1): 8-10.
- Evans, S. M. y Nicholson, G. J. 2000. The use of imposex to assess tributyltin contamination in coastal waters and open seas. *The Science of the Total Environment*, 258(1-2): 73-80.
- Evans, S. M., Evans, P. M. y Leksono, T. 1996. Widespread recovery of dogwhelks, *Nucella lapillus* (L.), from tributyltin contamination in the North Sea and Clyde Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 32(3): 263-269.

- Evans, S. M., Leksono, T. y Mckinnell, P. D. 1995. Tributyltin pollution: diminishing problem following legislation limiting the use of TBT-based anti-fouling paints. *Marine Pollution Bulletin*, 30(1): 14-21.
- Evans, S. M., Hawkins, S. T., Porter, J. y Samosir, A. M. 1994. Recovery of dogwhelk populations on the Isle of Cumbrae, Scotland following legislation limiting the use of TBT as an antifoulant. *Marine Pollution Bulletin*, 28(1): 15-17.
- Fernández, M., Limaverde, A. M., Braga de Castro, I., Martins, A. C. y Rebello, A. 2002. Occurrence of imposex in *Thais haemastoma*: possible evidence of environmental contamination derived from organotin compounds in Rio de Janeiro and Fortaleza, Brazil. *Cadernos de Saúde Pública*, 18(2): 463-476.
- Fernández, M. A., De Luca Rebello Wagener A., Limaverde, A. M., Scofield, A. L. Pinheiro, F. M. y Rodrigues, E. 2005. Imposex and surface sediment speciation: a combined approach to evaluate organotin contamination in Guanabara Bay, Rio de Janeiro, Brazil. *Marine Environmental Research*, 59: 435-452.
- Gibbs, P. E. 1993. A male genital defect in the dog-whelk, *Nucella lapillus* (neogastropoda), favouring survival in a TBT-polluted area. *Journal of Marine Biological Association of United Kingdom*, 73: 667-678.
- Gibbs, P. E. y Bryan, W. 1994. Biomonitoring of tributyltin (TBT) pollution using the imposex response of neogastropod molluscs, in Kess, J. M. Kramer (ed.). *Biomonitoring of coastal waters and estuaries*. CRC Press, Inc., Boca Raton, p. 205-222.
- Gibbs, P. E. y Bryan, W. 1996. TBT-induced imposex in neogastropod snails: masculinization to mass extinction, in de Mora S. J. (ed.). *Tributyltin: case*

- study of an environmental contaminant*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 212-236.
- Gibbs, P. E., Pascoe, P. L. y Burt, G. R. 1988. Sex change in the female dog-whelk, *Nucella lapillus*, induced by tributyltin from antifouling paints. *Journal of Marine Biological Association of United Kingdom*, 68: 715-731.
- Gibbs, P. E., Bryan, G. W., Pascoe, P. L. y Burt, G. R. 1987. The use of the dog-whelk, *Nucella lapillus*, as an indicator of tributyltin (TBT) contamination. *Journal of Marine Biological Association of United Kingdom*, 67: 507-523.
- Gibson, C. P. y Wilson, S. P. 2003. Imposex still evident in eastern Australia 10 years after tributyltin restrictions. *Marine Environmental Research*, 55: 101-112.
- Gómez-Ariza, J. L., Santos M. M., Morales, E., Giráldez, I., Sánchez-Rodas, D., Vieira, N., Kemp, J. F., Boon J. P. y Ten-Hallers-Tjabbes, C. C. 2006. Organotin contamination in the Atlantic Ocean off the Iberian Peninsula in relation to shipping. *Chemosphere*, 64: 1100-1108.
- Hoch, M. 2001. Organotin compounds in the environment – an overview. *Applied Geochemistry*, 16: 719-743.
- Horiguchi, T., Shiraishi, H., Shimizu, M. y Morita, M. 1994. Imposex and organotin compounds in *Thais clavigera* and *T. bronni* in Japan. *Journal of Marine Biological Association of United Kingdom*, 74: 651-669.
- IMO. 2001. International convention on the control of harmful anti-fouling systems on ships. AS/CONF/26.
- Langston, W. J. y Pope, N. D. 1995. Determinants of TBT adsorption and desorption in estuarine sediments. *Marine Pollution Bulletin*, 31(1-3): 32-43.

- Lemghich, I. y Benajiba, M. H. 2007. Survey of imposex in prosobranchs mollusks along the northern Mediterranean coast of Morocco. *Ecological Indicators*, 7: 209-214.
- Limaverde A. L., Rebello A. L., Fernandez M. A., Scofield A. L. y Coutinho, R. 2007. *Stramonita haemastoma* as a bioindicator for organotin contamination in coastal environments. *Marine Environmental Research*, 64: 384-398.
- Macías-Carranza, V. A., Macías-Zamora, J. V. y Villaescusa-Celaya, J. A. 1997. Organotin compounds in marine water and sediments from the port of Ensenada, Baja California, Mexico. *Ciencias Marinas*, 23(3): 377-394.
- Martínez-González, M. A., De Irala, J. y Faulín, F. J. 2001. *Bioestadística amigable*. Madrid: Díaz de Santos, p. 500.
- Matsui, H., Watanabe, M. y Watanabe, K. 1999. Does marine contamination with organotin compounds cause health damage in humans?. *Asian Medical Journal*, 42(11): 499-504.
- Miller, K. L., Fernandes, T. F. y Read, P. A. 1999. The recovery of populations of dogwhelks suffering from imposex in the Firth of Forth 1987-997/98. *Environmental Pollution*, 106: 183-192.
- Minchin, A. y Davies, I. M. 1999. Effect of freezing on the length of the penis in *Nucella lapillus* (L.). *Journal of Environmental Monitoring*, 1: 203-205.
- Minchin, D., Oehlmann, J., Duggan, C. B., Stroben, E. y Keatinge, M. 1995. Marine TBT antifouling contamination in Ireland, following legislation in 1987. *Marine Pollution Bulletin*, 30: 633-639.
- Morgan, E. y Murphy, J. 1998. Imposex in *Nucella lapillus* from TBT contamination in south and south-west Wales: a continuing problem around ports. *Marine Pollution Bulletin*, 36(10): 840-843.

- Oehlmann, J. y Schulte-Oehlmann, U. 2003. Endocrine disruption in invertebrates. *Pure and Applied Chemistry*, 75(11-12): 2207-2218.
- Oehlmann, J., Stroben, E. y Fioroni, P. 1996. New facts about tributyltin-induced imposex in prosobranchs: general aspects. *Molluscan Reproduction*, 6: 149-156.
- Omae, I. 2006. Chemistry and fate of organotin antifouling biocides in the environment, in Hutzinger, O. (ed.). *The handbook of environmental chemistry*. Vol. 5: Water Pollution, Part 0, p. 17-50.
- Quintela, M., Barreiro, R. y Ruiz, J. M. 2000. The use of *Nucella lapillus* (L.) transplanted in cages to monitor tributyltin (TBT) pollution. *The Science of the Total Environment*, 247: 227-237.
- Ramírez, R., Tuya, F. y Haroun, R. J. 2008. *El Intermareal Canario. Poblaciones de lapas, burgados y cañadillas*. BIOGES. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, p. 54.
- Ramírez, R., Tuya, F. y Haroun, R. J. 2009. Spatial patterns in the population structure of the whelk *Stramonita haemastoma* (Linnaeus, 1766) (Gastropoda: Muricidae) in the Canarian Archipelago (eastern Atlantic). *Scientia Marina*, 73 (3): 431-437.
- Readman, J. W. 2006. Development, occurrence and regulation of antifouling paint biocides, in Hutzinger, O. (ed.). *The handbook of environmental chemistry*. Vol. 5: Water Pollution, Part 0, p. 1-15.
- Rees, C. M., Grady, B. A. y Fabris, G. J. 2001. Incidence of imposex in *Thais orbita* from Port Phillip Bay (Victoria, Australia), following 10 years of regulation on use of TBT. *Marine Pollution Bulletin*, 42(10): 873-878.

- Richard, N. J. y Lillebo, H. P. 1988. *Tributyltin. A California water quality assessment: state water resources control board division of water quality*. Report nº 88-12 WQ.
- Rilov, G., Gasith, A., Evans, S. M. y Benayahu, Y. 2000. Unregulated use of TBT-based antifouling paints in Israel (eastern Mediterranean): high contamination and imposex levels in two species of marine gastropods. *Marine Ecology Progress Series*, 192: 229-238.
- Ruiz, J. M., Quintela, M. y Barreiro, R. 1998. Ubiquitous imposex and organotin bioaccumulation in gastropods *Nucella lapillus* from Galicia (NW Spain): a possible effect of nearshore shipping. *Marine Ecology Progress Series*, 164: 237-244.
- Ruiz J. M., Bachelet, G., Caumette, P. y Donard, O. F. X. 1996. Three decades of tributyltin in the coastal environment with emphasis on Arcachon Bay, France. *Environmental Pollution*, 93(2): 195-203.
- Santos, M. M., Vieira, N. Reis-Henriques, M. A. Santos, A. M. Gomez-Ariza, J. L. Giraldez, I. y ten Hallers-Tjabbes, C. C. 2004. Imposex and butyltin contamination off the Oporto Coast (NW Portugal): a possible effect of the discharge of dredged material. *Environmental International*, 30: 793-798.
- Shim, W. J., Kahng, S. H., Hong, S. H., Kim, N. S., Kim, S. K. y Shim, J. H. 2000. Imposex in the rocky shell, *Thais clavigera*, as evidence of organotin contamination in the marine environment of Korea. *Marine Pollution Bulletin*, 49: 435-451.
- Smith, B. S. 1980. The estuarine mud snail, *Nassarius obsoletus*: abnormalites in the reproductive system. *Journal of Molluscan Studies*, 46: 247-256.

- Smith, B. S. 1981. Tributyltin compounds induce male characteristics on female mud snails *Nassarius obsoletus* = *Ilyanassa obsoleta*. *Journal of Applied Toxicology*, 1(3): 141-144.
- Smith, P. J. 1996. Selective decline in imposex levels in the dogwhelk *Lepsiella scobina* following a ban on the use of TBT antifoulants in New Zealand. *Marine Pollution Bulletin*, 32(4): 362-365.
- Spence, S. K., Hawkins, S. J. y Santos, R. S. 1990. The mollusc *Thais haemastoma*- an exhibitor of "Imposex" and potential biological indicator of tributyltin pollution. *Marine Ecology*, 11(2): 147-156.
- Stickle, W. B. y Zhang, Z. 2003. Long-term trends in imposex in six populations of *Stramonita haemastoma*. *Bulletin of Marine Science*, 72(3): 685-694.
- Stroben, E., Oehlmann, J. y Fioroni, P. 1992. The morphological expression of imposex in *Hinia reticulata* (Gastropoda: Buccinidae): a potential indicator of tributyltin pollution. *Marine Biology*, 113: 625-636.
- Tan, K. S. 1999. Imposex in *Thais gradata* and *Chicoreus capucinus* (Mollusca, Neogastropoda, Muricidae) from the straits of Johor: a case study using penis length, area and weight as measures of imposex. *Marine Pollution Bulletin*, 39 (1-12): 295-303.
- Ten Hallers-Tjabbes, C. C., Wegener, J-W., Van Hattum, (A. G. M.) B., Kemp, J. F., Ten Hallers, E., Reitsema, T. J. y Boon, J. P. 2003. Imposex and organotin concentrations in *Buccinum undatum* and *Neptunea antiqua* from the North Sea: relationship to shipping density and hydrographical conditions. *Marine Environmental Research*, 55: 203-233.
- Tolosa, I., Readman, J. W., Blaewoet, A., Ghilini, S., Batocci, J. y Horvat, M. 1996. Contamination of Mediterranean (Côte d'Azur) coastal waters by organotins

and Irgarol 1051 used in antifouling paints. *Marine Pollution Bulletin*, 32(4): 335-341.

Conclusiones

Conclusions

A continuación se exponen, de forma abreviada, las principales conclusiones y aportaciones de este estudio, las cuales se agrupan específicamente para cada uno de los capítulos:

CAPÍTULO 1. Variabilidad espacial y temporal en la distribución y abundancia de moluscos gasterópodos en las costas rocosas de las Islas Canarias (Atlántico oriental).

1. En relación al eje horizontal de variación, los patrones de distribución y abundancia de los organismos presentaron mayor variabilidad a escalas espaciales pequeñas (desde 10s de cm hasta 10s de m) que a escalas intermedias (10s de Km) y grandes (desde 10s de Km hasta 100s de Km). En este sentido, las diferencias entre cuadrados (desde 10s de cm hasta 10 m) son la fuente más importante de variación para todas las especies.
2. En relación al eje vertical de variación, los organismos mostraron patrones de distribución y abundancia específicos, constantes de una isla a otra. Particularmente, *Osilinus sauciatatus* fue más abundante en la zona intermareal alta, mientras que *Patella aspera* en la zona intermareal baja. *Osilinus atrata*, *Patella rustica* y *Stramonita haemastoma* abundaron mayoritariamente en la zona intermareal media. *Patella candei crenata*, sin embargo, no mostró diferencias significativas para la abundancia entre la zona intermareal media y baja.
3. En cuanto a la complejidad del sustrato, éste es un factor importante de estructuración de las poblaciones a escalas pequeñas de las especies analizadas.
4. El factor tiempo sólo produjo variaciones sobre los patrones de distribución y abundancia de los organismos en el eje horizontal a escalas pequeña e intermedia.

La abundancia de *Osilinus atrata* también varió de forma significativa de un tiempo de muestreo a otro tiempo de muestreo.

5. Los patrones verticales de distribución y abundancia de los organismos fueron constantes de un tiempo de muestreo a otro, excepto para *Osilinus atrata*, el cual mostró algunas diferencias entre las zonas baja y alta.
6. En cuanto a la talla de los organismos se detectaron pocas diferencias significativas entre tiempos, islas y zonas.
7. Las estructuras de tallas de las poblaciones fueron relativamente constantes de un tiempo de muestreo a otro, mostrando distribuciones principalmente unimodales con cierta asimetría positiva.

CAPÍTULO 2. Efectos potenciales del marisqueo sobre moluscos gasterópodos de interés comercial (*Osilinus* spp. y *Patella* spp.) en el Archipiélago Canario.

1. Los resultados registrados sugieren que la influencia humana afecta negativamente a las poblaciones de moluscos gasterópodos de interés comercial en el Archipiélago Canario. Así, las especies de burgados y lapas presentes en áreas sujetas a una influencia humana media (La Graciosa, 22.4 hab. Km⁻¹ d⁻¹) o alta (Lanzarote, 569 hab. Km⁻¹ d⁻¹) presentaron alteraciones poblaciones respecto a áreas sometidas a menor influencia (Alegranza, 0 hab. Km⁻¹ d⁻¹).
2. Las densidades de las poblaciones de burgados y lapas en La Graciosa y Lanzarote fueron mucho menores (de 10 a 15 veces menos) que las registradas en Alegranza.

3. Las estructuras de tallas de las poblaciones de burgados y lapas en La Graciosa y Lanzarote presentaron evidencias claras de sobreexplotación, mientras que éstas mostraron el buen estado de dichas poblaciones en Alegranza.
4. Los resultados obtenidos plantean serias dudas sobre la efectividad de las regulaciones emanadas de la Ley de Pesca de Canarias y de la Reserva Marina de Interés Pesquero “Isla de La Graciosa e Islotes al Norte de Lanzarote”.

CAPÍTULO 3. Uso de *Osilinus atrata* como biomonitor de metales pesados (Cd, Cu, Pb y Zn) en el Archipiélago Canario.

1. *Osilinus atrata* mostró un alta variabilidad tanto intraespecífica como interespecíficamente para las concentraciones metálicas. Particularmente, *Osilinus atrata* fue un gran acumulador de Cu y Zn.
2. Las concentraciones metálicas en *Osilinus atrata* mostraron una alta variabilidad espacial, aunque sólo el Cd y el Cu presentaron unos patrones espaciales determinados. Concretamente, las concentraciones de Cd fueron significativamente más altas en las localidades situadas en las islas más orientales (Archipiélago Chinijo, Lanzarote y Fuerteventura) que en las occidentales (Gran Canaria, Tenerife, La Gomera y La Palma), mientras que los niveles de Cu mostraron el patrón contrario.
3. Mayoritariamente, las concentraciones de Cd, y sólo algunos ejemplares en el caso del Pb, superaron los límites permitidos para moluscos bivalvos de consumo humano en la UE.

4. Los ejemplares macho de *Osilinus atrata* presentaron mayor concentración de Cd y Zn que los ejemplares hembra, una concentración similar para el Pb pero una concentración más baja de Cu.

CAPÍTULO 4. Imposex y acumulación de compuestos orgánicos de estaño en poblaciones de *Stramonita haemastoma* de las Islas Canarias, España.

1. Este estudio constituye la primera evidencia de imposex y contaminación por compuestos orgánicos de estaño en el Archipiélago Canario utilizando *Stramonita haemastoma* como bioindicador.
2. Los puertos fueron la mayor fuente de contaminación por compuestos orgánicos de estaño. Así, las concentraciones detectadas para *Stramonita haemastoma* de TBT, DBT y TOT en las localidades situadas dentro de los puertos fueron mayores que aquellas observadas en localidades situadas cerca o lejos de ellos.
3. Tanto la frecuencia de imposex como los índices que miden su grado de desarrollo (RPSI, RPLI y VDSI) mostraron una gran variabilidad; no obstante, éstos presentaron generalmente una tendencia descendente desde los puertos.
4. Las concentraciones de TBT, DBT y TOT fueron similares para los ejemplares macho y hembra de *Stramonita haemastoma*.

Como conclusión general de este estudio se puede decir que:

- Los moluscos gasterópodos son grandes bioindicadores de la calidad del medio ambiente y del estado de conservación de los ecosistemas naturales en el Archipiélago Canario.

Next, the main conclusions and contributions of this study, which are specifically grouped for each chapter, are briefly shown:

CHAPTER 1. Spatial and temporal variability in the distribution and abundance of gastropod molluscs on rocky shores of the Canary Islands (eastern Atlantic).

1. In relation to the horizontal axis of variation, the patterns of distribution and abundance of the organisms were more variable at small scales (from 10s of cm to 10s of m) than intermediate (10s of Km) and large scales (from 10s of Km to 100s of Km). In this sense, the differences among squares (from 10s of cm to 10 m) were the most important source of variation for all species.
2. In relation to the vertical axis of variation, the organisms showed specific patterns of distribution and abundance but constant from island to island. Particularly, *Osilinus sauciatus* was more abundant on the high intertidal zone, whereas *Patella aspera* on the low intertidal zone. *Osilinus atrata*, *Patella rustica* and *Stramonita haemastoma* were mainly abundant on the intermediate intertidal zone. *Patella candei crenata*, however, did not show significant differences for the abundance between the intermediate and high intertidal zones.
3. In regard to the substratum complexity, this factor is important structuring the populations at small scales of the analysed species.
4. The factor time only caused variations on the patterns of distribution and abundance of the organisms in the horizontal axis at small and intermediate scales. The abundance of *Osilinus atrata* also varied significantly from sampling time to sampling time.

5. The vertical patterns of distribution and abundance of the organisms were constant from sampling time to sampling time, except *Osilinus atrata*, which showed some differences between the low and high intertidal zones.
6. Taking into consideration the size of the organisms few significant differences were detected among times, islands and zones.
7. The size structures of the populations were relatively constant from sampling time to sampling time, showing mainly unimodal distributions with a certain positive asymmetry.

CHAPTER 2. Potential effects of man harvesting on gastropod molluscs of commercial interest (*Osilinus* spp. y *Patella* spp.) in the Canarian Archipelago

1. The registered results suggest that human influence negatively affect to the populations of gastropod molluscs of commercial interest in the Canarian Archipelago. Thus, the species of troquids and limpets present in areas submitted to medium (La Graciosa, 22.4 hab. Km⁻¹ d⁻¹) and high (Lanzarote, 569 hab. Km⁻¹ d⁻¹) human influence showed population changes with respect to areas submitted to low influence (Alegranza, 0 hab. Km⁻¹ d⁻¹).
2. The densities of the troquid and limpet populations in La Graciosa and Lanzarote were much lower (10 to 15 times less) than those registered in Alegranza.
3. The size structures of the troquid and limpet populations in La Graciosa and Lanzarote presented clear evidences of overexploitation, whereas these showed the good state of such populations in Alegranza.

4. The obtained results raise serious doubts about the effectiveness of the regulations emitted by the Canary Fishing Law and the Marine Reserve of fishing interest “Isla de La Graciosa e Islote al Norte de Lanzarote”.

CHAPTER 3. Use of *Osilinus atrata* as biomonitor of heavy metals (Cd, Cu, Pb y Zn) in the Canarian Archipelago.

1. *Osilinus atrata* showed a high intraspecific and interspecific variability for metal concentrations. Particularly, *Osilinus atrata* was a great accumulator of Cu and Zn.
2. The metal concentrations in *Osilinus atrata* presented a high spatial variability, although only Cd and Cu showed a determined spatial pattern. Concretely, the concentrations of Cd were significantly higher in the locations situated in the eastern islands than those in western islands, whereas the levels of Cu showed the contrary pattern.
3. Mostly, the concentrations of Cd, and only some specimens for the Pb, exceed the limits legally allowed by the UE for bivalve molluscs of human consume.
4. Male specimens showed higher concentrations of Cd and Zn than those in females, a similar concentration of Pb but a lower concentration of Cu.

CHAPTER 4. Imposex and accumulation of organotin compounds in populations of *Stramonita haemastoma* from the Canary Islands, Spain.

1. This study constitutes the first evidence of imposex and contamination by organotin compounds in the Canarian Archipelago using *Stramonita haemastoma* as bioindicator.
2. Ports were the main source of contamination by organotin compounds. Thus, the detected concentrations of TBT, DBT and TOT for *Stramonita haemastoma* in the localities situated inside ports were higher than those observed in localities situated near or far of them.
3. Both frequency of imposex and the indexes which measure its grade of development (RPSI, RPLI and VDSI) showed a great variability; nevertheless, these generally presented a descending tendency from ports.
4. The concentrations of TBT, DBT and TOT were similar for male and female specimens of *Stramonita haemastoma*.

As general conclusion of this study it can be said that:

- Gastropod molluscs are great bioindicators of the quality of the environment and the state of conservation of the natural ecosystems in the Canarian Archipelago.

Anexo



Chapter 1

1. INTRODUCTION

Ecological systems are naturally variable both spatial and temporally. On marine coastal ecosystems, several physical, biological and anthropogenic processes interact to generate and maintain variable patterns (Dayton, 1971; Menge & Sutherland, 1976; Castilla & Durán, 1985; Alfaro & Carpenter, 1999; Harley & Helmuth, 2003). This inconsistency is an impediment to make generalizations in the search of general ecological rules (Levin, 1992; Underwood & Chapman, 1996; Benedetti-Cecchi *et al.*, 2000; Fraschetti *et al.*, 2005). In order to understand what importance have the implied processes, as well as to elaborate models that explain the patterns of distribution and abundance of the organisms, the relevant spatial scales of variation must be initially identified (Levin, 1992; Horne & Schneider, 1995; Underwood & Chapman, 1996, Hewitt *et al.*, 1997; Huston, 1999; Bishop *et al.*, 2002). Additionally, temporal replication is required prior to establish any general conclusion, because spatial patterns do not necessarily remain constant over time (Denny *et al.*, 2004; Fraschetti *et al.*, 2005). As a result, ecologists have adopted empirical approaches covering different spatial and temporal scales in addition to refined statistical techniques for the analysis of data (e.g. Underwood & Chapman, 1998; Menconi *et al.*, 1999; Benedetti-Cecchi, 2001; Fraschetti *et al.*, 2005; Anderson *et al.*, 2005; Nakaoka *et al.*, 2006; Coleman *et al.*, 2006b).

Rocky shores are affected by a wide range of marine and terrestrial mechanisms. In a few meters along the vertical axis, the environmental conditions vary extensively, causing very sharp gradients (Bertness, 1999; Helmuth & Hofmann, 2001; Harley & Helmuth, 2003). This heterogeneity influences on the colonization and spatial arrangement of intertidal organisms (Fig. 1), which are, generally, placed on the shore

showing a zonation pattern in levels (Colman, 1933; Stephenson y Stephenson, 1949). Seminal studies about zonation have demonstrated that the classical factors involved in such vertical patterns (e.g. wave exposure, desiccation, temperature, etc) can not explain such patterns of distribution and abundance, since these can be masked by other processes potentially important (Underwood & Chapman, 1996; Benedetti-Cecchi & Cinelli, 1997; Creese & Kingsford, 1998; Menconi *et al.*, 1999; Benedetti-Cecchi, 2001; Helmuth *et al.*, 2002).



Figure 1. Many intertidal organisms (e.g. trochids, limpets, etc) show a patchy distribution on the rocky shores.

The perception of the processes that operate on the assemblages of organisms and their patterns of distribution and abundance depend on the scale at which the environment is observed (Wiens, 1989; Levin, 1992). In fact, not every process occurred at all scales. There are local and regional processes: the former operate at small-scale (less than m to 100s m) and the last ones at larger scales (from 100s to

1000s of km), respectively. Nevertheless, this division is not fixed, since both types of processes can propagate at smaller or larger spatial scales (Horne & Schneider, 1995; Huston, 1999; Trush *et al.*, 1997; Benedetti-Cecchi, 2001; Wootton, 2001; Irving *et al.*, 2004), covering thus, intermediate-scales (from km to 10s of km). In this sense, small-scale processes may be, at least, as important as large-scale processes generating patterns in benthic assemblages (Fraschetti *et al.*, 2005). Thus, detailed studies at local scales are important to understand variation at the regional scale. Variation at small-scale seem to be related with several processes as the following: habitat characteristics (like type of substratum and presence of structural elements, e.g. Raffaelli & Hughes, 1978; Chapman, 1994; Archambault & Bourget, 1996; Lemire & Bourget, 1996; Beck, 2000; Underwood, 2004), behavioural characteristics (like competition, e.g. Dayton, 1971; Connell, 1972; Branch, 1975; Chapman, 1994; Benedetti-Cecchi *et al.*, 1996; Dunmore & Schiel, 2003) and supply-side mechanisms (e.g. Grosberg, 1982; Sousa, 1984; Lemire & Bourget, 1996; Archambault & Bourget, 1999; Hutchinson & Williams, 2001; Johnson *et al.*, 2001; Coleman, 2003). At large-scales, however, traditional biogeographical studies have supplied perspectives of the processes influencing whole assemblages. Thus, the regional processes may be condensed in three groups: (1) geophysical properties of a region (e.g. age, climate, geology, etc) (e.g. Sagarin *et al.*, 1999), (2) oceanographic conditions (e.g. sea temperature, concentration of nutrients, currents, etc) on marine environments (e.g. Menge, 2000; Bustamante & Branch, 1996; Broitman *et al.*, 2001; Nakaoka *et al.*, 2006; Mieszkowska *et al.*, 2007) and (3) ecological or evolutionary aspects (e.g. rates of speciation, immigration and extinction) (e.g. Ricklefs, 1987; Huston, 1999; Brown & Lomolino, 2000).

On insular systems, several intrinsic characteristics of the islands must be incorporated (e.g. historical events, local oceanographic processes, anthropogenic perturbations, etc) since these may cause different patterns to those typically present in adjacent continental areas. In this sense, although some studies have been performed on rocky shores of the Canarian Archipelago, as well as in other adjoining archipelagos (Madeira or Azores) within the Macaronesic region (central-eastern Atlantic) (see references in Hawkins *et al.*, 2000; Nuñez *et al.*, 2003; Wallenstein & Neto, 2006; Martins *et al.*, 2007), few of them have examined whether patterns are consistent along different environmental gradients at a range of spatial and temporal scales (although in Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005, 2009; Tuya *et al.*, 2006; there are some spatial comparisons). Consequently, the main objective of this study was to determine the spatial patterns of distribution and abundance of several species of conspicuous gastropod molluscs on the rocky coasts of the Canary Islands. This was performed along a range of horizontal spatial scales hierarchically organized ranging from m to 100s of km at three times and incorporating the variability across the vertical axis along the coast. Moreover, some aspects on size, as for example the size-structure, were analyzed for each studied species.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Study area

This study was carry out in the Canary Islands, Spain (27-30° N, 13-19° W), about 100 km of the adjacent northwest coast of Africa (Fig. 2). A total of 32 rocky intertidal platforms, including the group of islands at the north of Lanzarote called as the Chinijo Archipelago, were sampled in October 2003 (T1), March 2004 (T2) and October 2004 (T3) (Fig. 2). The sampling dates corresponded with the oceanographic

summer and winter in the Canary Islands, which are reached in September-October (sea temperature of 23-25° C) and February-March (16-18° C), respectively (Pérez-Martell *et al.* 1996; Pavón-Salas *et al.*, 2000; Haroun, 2001). The platforms were directly open to the ocean and constantly exposed to the wave action (period in the order of seconds) from practically any direction (see Fig. 2), though the seas with a northern component dominated in frequency. Both regimen and tide range were constant during the study, showing two high tides and two low tides each day (semi-diurnal regimen) with an amplitude between 2.7 and 3 m (Afonso, 1988; Lüning & Asmus, 1991).

The origin of the Canary Islands was volcanic and occurred at different periods of time (Carracedo, 2001; Hernán, 2001). The eastern islands (CA, L, F and GC) are, in general, older than the western islands (T, G, P and H) what have submitted them to erosive actions (rainfall, storms, wind, etc) during more time originating clear topographical differences, particularly on the coasts (Carracedo, 2001; Criado, 2001). To determine whether the rocky platforms presented any dissimilarity among islands, in terms of total length per intertidal zone (see zones later), this attribute was measured along a perpendicular line to the coast, using a tape-measure and a stick. Similarly, the presence of structural elements (crevices and holes) on the platforms was assessed in a sub-sample of 1800 squares (600 at each zone) to estimate the influence of the substratum complexity on the spatial distribution of the benthic organisms. Crevices and holes were defined as cracks sufficiently big to house any specimen of the studied species (see later) from their minimal sizes and, approximately, with a depth-to-width ratio at least equal to 1. To measure the substratum surface occupied by these structural elements were established five ranges of percentages (< 5, 5-25, 25-50, 50-75 and 75-100).

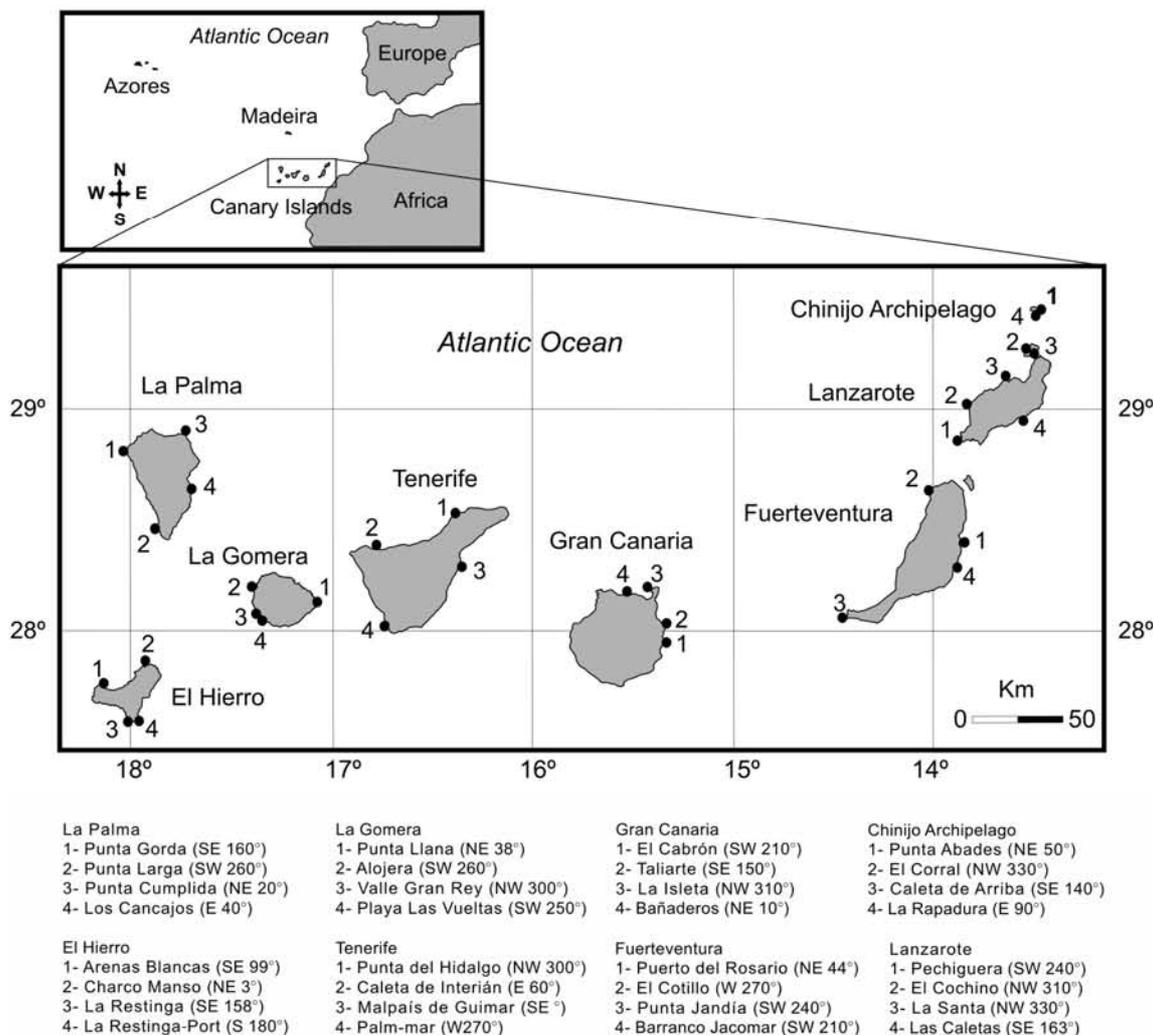


Figure 2. Map of the Canarian Archipelago showing the sampled locations and their orientations.

2.2 Community structure and studied species

Assemblages of organisms on the canary rocky shores show, in general, a pattern well-defined following the classical zonation schemes (Stephenson & Stephenson, 1949; Lawson & Norton, 1971; Ramírez *et al.*, 2008). These were structured in three levels or zones: high zone, mid zone and low zone. The high zone is characterized by Cyanobacteria like *Calothrix crustacea*, *Brachytrichia quoyi* and occasionally by lichens such *Lichina confinis*. The mid zone is dominated by the barnacle *Chthamalus stellatus* mixed with dispersed specimens of *C. crustacea* and patchy turfs of the red algae *Gelidium pusillum*. The low zone is dominated by variable

assemblages, including crustose coralline red algae (e.g. *Hydrolithon* spp.), dense turfs of articulated coralline red algae (e.g. *Jania* spp., *Corallina* spp., *Haliptilon* spp., etc) and non-coralline red algae (e.g. *Laurencia* spp., *Polysiphonia* spp. and *Ceramium* spp.) together with turfs of erect brown algae (e.g. *Cystoseira* spp.).



Figure 3. Intertidal zones: high (black on the left), mid (yellow in the middle) and low (brown on the right).

In this study, six species of gastropod molluscs were selected including herbivores (trochids and limpets) and a carnivorous species (a muricid or predatory whelk) (Fig. 4). These organisms have been recognized as key in the intertidal zone since they play an important role structuring communities (Silva *et al.*, 2003; Dunmore & Schiel, 2003). The trochids were *Osilinus atrata* (Wood 1828), distributed across the entire Canarian Archipelago and *Osilinus sauciatus* (Koch 1845), restricted to some islands (Ramírez *et al.*, 2005). The limpets, all distributed throughout Archipelago as well, were: *Patella aspera* Röding, 1798; *Patella candei crenata* d'Orbigny, 1840; *Patella rustica* Linnaeus, 1758. The limpet *Patella candei candei* d'Orbigny, 1840 was not included due to its scarcity (near to extinction) and limited distribution in the Archipelago (Nuñez *et al.*, 2003). Lastly, the muricid *Stramonita haemastoma*

Linnaeus, 1766 was also included in the analysis. Some of these species present a wide distribution covering Atlantic and Mediterranean areas (*P. rustica*, *P. aspera* and *S. haemastoma*), whereas the others are limited to the Macaronesic region (*P. c. crenata*, *O. atrata* and *O. sauciatus*) (Hawkins *et al.*, 2000). These species can be considered model organisms due to the following characteristics: (1) to live on the surface of the rocky shores, (2) to be visible and (3) to have reduced mobility making counting and sampling easy.

| | | | | | | |
|--|--|--|-------------------------------|----------------------|------------------------------|--|
| |  | | | | | |
| Kingdom | <i>Animal</i> | | | | | |
| Division | <i>Mollusca</i> | | | | | |
| Class | <i>Gastropoda</i> | | | | | |
| Order | <i>Archaeogastropoda</i> | | | <i>Apogastropoda</i> | | |
| Family | <i>Trochidae</i> | | <i>Patellidae</i> | | <i>Muricidae</i> | |
| Genus & species | <i>Osilinus atrata</i> | | <i>Patella aspera</i> | | <i>Patella rustica</i> | |
| | <i>Osilinus sauciatus</i> | | <i>Patella candei</i> | | <i>Stramonita haemastoma</i> | |
| Subspecies | | | <i>Patella candei crenata</i> | | | |
| Common names: Female top-shell snail (<i>O. atrata</i>); Male top-shell snail (<i>O. sauciatus</i>); White limpet (<i>P. aspera</i>); Black limpet (<i>P. candei crenata</i>); Sun limpet (<i>P. rustica</i>); Dogwhelk, oyster drill (<i>S. haemastoma</i>) | | | | | | |

Figure 4. Taxonomy classification of the studied molluscs.

2.3 Sampling design and technique

A useful way of measuring the relative importance of processes operating at different spatial scales on the structure of the communities is based on a hierarchical approach (Kotliar & Wiens, 1990; Underwood and Chapman, 1996), where smaller-scaled phenomena are nested within larger-scaled ones (Fraschetti *et al.*, 2005; Nakaoka *et al.*, 2006). The sampling design was, therefore, as follows: on each island, separated

by 10s to 100s km, four localities of rocky substratum, spaced by 10s of km, were randomly chosen; additionally, at each locality, three sites, separated by 10s of m, were randomly selected as well; finally, at each site, the densities of the six gastropod molluscs were estimated using units randomly distributed (spaced from 10s of cm to 10 m) on each intertidal zone ($n = 10$).

Organisms were counted using 50 x 50 cm metal quadrants (0.25 m^2) (Creese & Kingsford, 1998; Fig. 5). This sampling method was satisfactorily utilized on the canary rocky coasts in previous studies (Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005, 2009; Tuya *et al.*, 2006) and in many other coastal areas (e.g. Takada, 1995; Rilov *et al.*, 2001; Boaventura *et al.*, 2003; Branch & Odendaal, 2003; Dunmore & Schiel, 2003; Silva *et al.*, 2003; Arrontes *et al.*, 2004). In each square, all specimens of limpets, trochids and muricids were also measured using Vernier callipers to the nearest 1 mm (Fig. 5).



Figure 5. Intertidal sampling technique and detail of size measurement on a limpet.

2.4 Statistical analysis

For each species, the data of abundance were analysed using analysis of variance (ANOVA) by means of the GMAV5 software to determine the significance of differences among the intertidal zones across the set of horizontal scales. The considered factors were: (1) time, as fixed and orthogonal (three levels corresponding to the three sampling times), (2) island, as fixed and orthogonal (eight levels corresponding to the eight islands), (3) zone, as fixed and orthogonal (three levels corresponding to the three intertidal zones; high, mid and low), (4) locality, as random and nested in the interaction “island x zone” and (5) site, as random and nested in the interaction “island x zone x locality” (Underwood, 1997; Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005; Tuya *et al.*, 2005). Thus, the model of the variability sources responds to the formula:

$$X = \mu + \text{time} + \text{island} + \text{zone} + \text{locality (island x zone)} + \text{site (island x zone x locality)} + \text{time x island} + \text{time x zone} + \text{time x locality (island x zone)} + \text{time x site (island x zone x locality)} + \text{island x zone} + \text{time x island x zone} + \text{residual} \quad (1)$$

The Cochran's test was used to check the homogeneity of the variances. When necessary, the data were transformed to avoid the Type error I rate, although the analyses were robust for sufficiently large studies with a balanced distribution of replicates. Thus, the F statistic was not very affected by the variance's heterogeneity and it was sufficient to choose a smaller and conservative level of significance (α) (Underwood, 1997; Martínez *et al.*, 2001). When the initial F test of the ANOVA was significant for the main factors time, island and zone, the Student-Newman-Keuls (SNK) test was used for post-hoc comparisons. Moreover, in order to know the

contribution (%) of each spatial scale (island, locality, site and square) to the total variability at each intertidal zone (Graham, 2001), the variance components were calculated using STATGRAPHICS Plus 5.0. When the factor time was significant in the initial ANOVA, the analysis of the variance components were realized for each time.

The study of the specimen's size presented two objectives for each species: (1) to determine differences in mean sizes between times, islands and zones and (2) to define the population size-structure in the Canarian Archipelago, indicating in both cases which factors may produce changes on size. This study was determined by the abundance of the different species; thus, when abundance was low, comparisons among groups of interest could not be performed satisfactorily. To avoid this bias, size data were pooled and analysed among islands or for the overall Archipelago. The registered sizes were compared by means of confidence intervals (CI) to 95 % ($\alpha = 0.05$) to get the first objective (Martínez, 2001), whereas, to define which was the population size-structure, a frequency diagram was obtained for the overall specimens registered at each time. Size ranges were established in standard way, which were of 3 mm for trochids and 5 mm for limpets and muricids (Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005, 2009).

3. RESULTS

3.1 Intertidal platforms and substratum complexity

The intertidal platforms on the eastern islands were clearly larger than those on the western islands (Fig. 6A). Thus, the longest platforms were registered in L (≈ 75 m), whereas the shortest (< 30 m) at P; this result probably reflects the difference of geological age between the islands. The CA, despite its short geological age, presented platforms with similar lengths to L (Fig. 6A). By contrast, G, much more old than the

others western islands, showed longer platforms, especially its high zones (Fig. 6A). Overall, each intertidal zone was also larger on the eastern than western islands (Fig. 6A). Although such differences were more obvious on the high and low zones, the lengths of the mid zone were particularly short in G, P and H (Fig. 6A).

Although the substratum complexity was variable from quadrant to quadrant, it varied depending on each intertidal zone (Fig. 6B). The low and high zones showed very low habitat complexity (< 5 % of crevices and holes) in the 70 % and 60 % of the analysed squares respectively. At the mid zone, the frequency of squares with that complexity was about 40 %, whereas, approximately another 40 % presented coverage of crevices and holes ranging from 5 to 25 %, whereas, approximately another 40 % presented coverage of crevices and holes ranging from 5 to 25 % (Fig. 6B). Although squares with a mid (25-50 %), high (50-75 %) or very high (75-100 %) complexity were scarce or inexistent on the three intertidal zones, these were more frequent on the mid zone (Fig. 6B).

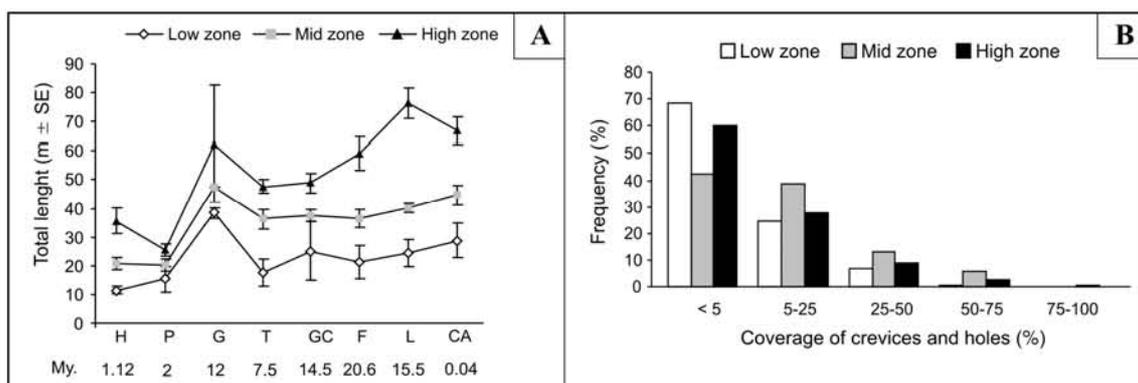


Figure 6. A: Total mean length of the platforms and mean length of each intertidal zone (distance between lines) for each island, i.e. El Hierro (H), La Palma (P), La Gomera (G), Gran Canaria (GC), Fuerteventura (F), Lanzarote (L), Chinijo Archipelago (CA). The age of the islands was indicated in million of years (My.); **B:** Substratum complexity, given as the coverage of crevices and holes, at each intertidal zone.

3.2 Studied species

The results obtained from the six gastropod molluscs will be presented separated, starting with the two trochid species, then the three patellid species and, finally, the only muricid species.

3.2.1 *Osilinus atrata*

Osilinus atrata presented a spatial distribution pattern very variable at small and intermediate scales (sites and localities respectively), with patterns even inconsistent from time to time (Table 1). This trochid showed differences in abundance among the intertidal zones, which were, however, inconsistent from time to time (Table 1). Overall, it was more abundant on the mid zone (80.06 % of the total registered specimens) at the three sampling times (Test SNK, $p < 0.01$) (Fig. 7). Moreover, its abundance was greater on the high zone than on the low zone at T1 (Test SNK, $p < 0.01$) and T3 (Test SNK, $p < 0.04$), whereas no difference was found at T2 despite no specimen occurred on the low zone (Fig. 7). Additionally, *O. atrata* presented significant differences between times (as main factor) showing a higher abundance at T1 than T2 and T3 (Test SNK, $p < 0.01$). The difference among squares (i.e. residual) was the most important source of variation at each intertidal zone and time (Table 2). In each case, this factor explained more than 70 % of the total variance (Table 2). On the mid zone, the factor locality also contributed approximately 27 % and 19 % at T1 and T3 respectively, whereas the factor site 23 % at T2.

The size range of *Osilinus atrata* varied between 2 mm and 29 mm, showing a unimodal distribution at the three sampling times (Fig. 8). The size classes more frequent were: 10-12 mm (at T1 and T2) and 13-15 mm (at T3) (Fig. 8), with the

following mean sizes for the entire Archipelago: 11.08 ± 0.07 (T1), 10.78 ± 0.09 (T2) and 12.80 ± 1.88 mm (T3) (mean \pm SE). All the islands, except H, showed significant differences on mean size among sampling times (Fig. 9). Although any regular pattern was found, the larger specimens were registered at T1 and T3 (Fig. 9). During the all experimental period, the shortest mean size was found in T (Table 3). The mean size of this trochid seems to increase from the low to high zones although only significant differences were found at T2 (Fig. 10).

Table 1. ANOVA on the abundance of the studied molluscs. Bold numbers indicate significance.

| Source of variation | df | Ms | F | p | Ms | F | p |
|----------------------|------|------------------------|-------|-----------------|-------------------------------|-------|-----------------|
| | | <i>Osilinus atrata</i> | | | <i>Osilinus sauciatatus</i> | | |
| T = Time | 2 | 3302.14 | 9.30 | < 0.001 | 19.16 | 0.94 | > 0.3 |
| I = Island | 7 | 4203.43 | 1.75 | > 0.1 | 236.25 | 2.38 | < 0.04 |
| Z = Zone | 2 | 49011.36 | 20.45 | < 0.0001 | 470.87 | 4.74 | < 0.02 |
| L (I x Z) = Locality | 72 | 2396.32 | 8.51 | < 0.0001 | 99.42 | 2.19 | < 0.0001 |
| S (I x Z x L) = Site | 192 | 281.52 | 3.09 | < 0.0001 | 45.47 | 3.81 | < 0.0001 |
| T x I | 14 | 540.30 | 1.52 | > 0.1 | 33.01 | 1.62 | > 0.08 |
| T x Z | 4 | 1805.30 | 5.08 | < 0.001 | 8.40 | 0.41 | > 0.8 |
| T x L (I x Z) | 144 | 355.17 | 1.88 | < 0.0001 | 20.43 | 1.65 | < 0.001 |
| T x S (I x Z x L) | 384 | 188.79 | 2.07 | < 0.0001 | 12.36 | 1.04 | > 0.3 |
| I x Z | 14 | 3002.36 | 1.25 | > 0.2 | 144.48 | 1.45 | > 0.1 |
| T x I x Z | 28 | 366.64 | 1.03 | > 0.4 | 27.93 | 1.37 | > 0.1 |
| Residual | 7776 | 91.00 | | | 11.93 | | |
| Total | 8639 | | | | | | |
| | | <i>Patella aspera</i> | | | <i>Patella candei crenata</i> | | |
| T = Time | 2 | 5.60 | 0.12 | > 0.8 | 14.24 | 0.93 | > 0.3 |
| I = Island | 7 | 312.53 | 1.48 | > 0.1 | 74.70 | 1.67 | > 0.1 |
| Z = Zone | 2 | 957.70 | 4.53 | < 0.02 | 65.90 | 1.47 | > 0.2 |
| L (I x Z) = Locality | 72 | 211.33 | 6.52 | < 0.0001 | 44.77 | 6.31 | < 0.0001 |
| S (I x Z x L) = Site | 192 | 32.43 | 3.41 | < 0.0001 | 7.09 | 3.07 | < 0.0001 |
| T x I | 14 | 38.74 | 0.84 | > 0.6 | 7.32 | 0.48 | > 0.9 |
| T x Z | 4 | 10.63 | 0.23 | > 0.9 | 20.79 | 1.35 | > 0.2 |
| T x L (I x Z) | 144 | 46.38 | 1.00 | > 0.4 | 15.36 | 2.42 | < 0.0001 |
| T x S (I x Z x L) | 384 | 46.48 | 4.88 | < 0.0001 | 6.35 | 2.75 | < 0.0001 |
| I x Z | 14 | 203.73 | 0.96 | > 0.4 | 22.14 | 0.49 | > 0.9 |
| T x I x Z | 28 | 60.92 | 1.31 | > 0.1 | 21.01 | 1.37 | > 0.1 |
| Residual | 7776 | 9.52 | | | 2.31 | | |
| Total | 8639 | | | | | | |
| | | <i>Patella rustica</i> | | | <i>Stramonita haemastoma</i> | | |
| T = Time | 2 | 2.70 | 0.05 | > 0.9 | 14.49 | 1.39 | > 0.2 |
| I = Island | 7 | 575.65 | 0.91 | > 0.5 | 55.55 | 1.54 | > 0.1 |
| Z = Zone | 2 | 2776 | 4.37 | < 0.02 | 540.69 | 15.01 | < 0.0001 |
| L (I x Z) = Locality | 72 | 635.73 | 22.79 | < 0.0001 | 36.03 | 6.36 | < 0.0001 |
| S (I x Z x L) = Site | 192 | 27.89 | 1.50 | < 0.0001 | 5.66 | 2.18 | < 0.0001 |
| T x I | 14 | 80.95 | 1.62 | > 0.08 | 10.81 | 1.04 | > 0.4 |
| T x Z | 4 | 1.14 | 0.02 | > 0.9 | 4.09 | 0.39 | > 0.8 |
| T x L (I x Z) | 144 | 50.07 | 2.14 | < 0.0001 | 10.43 | 2.23 | < 0.0001 |
| T x S (I x Z x L) | 384 | 23.41 | 1.26 | < 0.001 | 4.67 | 1.79 | < 0.0001 |
| I x Z | 14 | 458.84 | 0.72 | > 0.7 | 41.19 | 1.14 | > 0.3 |
| T x I x Z | 28 | 65.87 | 1.32 | > 0.1 | 4.62 | 0.44 | > 0.9 |
| Residual | 7776 | 18.59 | | | 2.60 | | |
| Total | 8639 | | | | | | |

df: degrees of freedom; Ms: mean squares; F: Fisher's F; p: level of significance

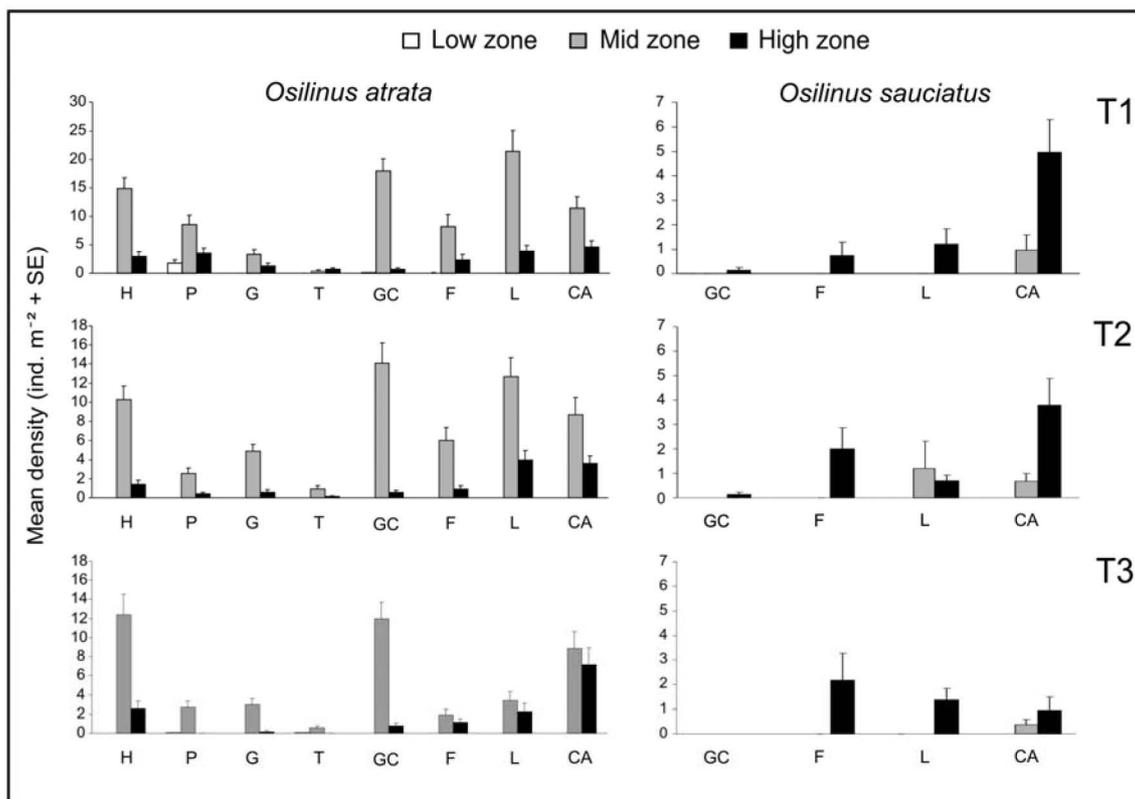


Figure 7. Mean density of *Osilinus* spp. at each intertidal zone per island and sampling time (abbreviations as in Figure 6).

3.2.2 *Osilinus sauciatus*

Osilinus sauciatus showed a variable distribution pattern for all spatial scales both in the horizontal and vertical axis (Table 1). This variability was only inconsistent from sampling time to another sampling time at intermediate scale (locality; Table 1). This trochid presented a restricted distribution to the eastern islands (CA, L, F, GC); its abundance was significantly higher in the CA than in GC (Test SNK, $p < 0.05$; Fig. 7). Differences between intertidal zones were constant for islands and times (Table 1). *O. sauciatus* was much more abundant on the high zone (83 % of the total registered specimens) relative to the mid (27 % of total) and low zones (on which any specimen was found during the study) (Test SNK, $p < 0.05$; Fig. 7). The most important source of

variation was the difference among replicated squares (i.e. residual) (Table 4). This term explained 83 % (high zone) and 99 % (mid zone) of the total variance.

The size range of *Osilinus sauciatus* varied between 3 and 32 mm and presented a unimodal distribution at each time (Fig. 8). The size class 13-15 mm was the more frequent at T1 and T2, whereas the 16-18 mm class at T3. Thus, the mean sizes (\pm SE) for the overall study were: 12.32 ± 0.24 (T1), 12.78 ± 0.28 (T2) and 14.07 ± 0.38 mm (T3). Differences on mean size from sampling time to sampling time were only detected in L and F (Fig. 9). Similarly, few significant differences were found among islands at the three times (Table 3). With respect to intertidal zones, this trochid presented significant differences at T1 and T3 showing the larger mean sizes on the mid and high zones respectively (Fig. 10).

Table 2. Results of the analysis of variance components for *Osilinus atrata* at each sampling time.

| Source | df | Low Zone | | | | Mid Zone | | | | High Zone | | | |
|-----------|-----|----------|------|-------|------------|----------|-------|-------|------------|-----------|------|------|------------|
| | | Ss | Ms | Vc | ω^2 | Ss | Ms | Vc | ω^2 | Ss | Ms | Vc | ω^2 |
| T1 | | | | | | | | | | | | | |
| Island | 7 | 52.8 | 7.54 | 0.03 | 1.51 | 557.8 | 79.68 | 0.006 | 0.07 | 47.6 | 6.8 | 0 | 0 |
| Locality | 24 | 99.3 | 4.14 | 0.007 | 0.39 | 1893.9 | 78.91 | 2.41 | 26.9 | 188.7 | 7.86 | 0.15 | 7.83 |
| Site | 64 | 250.7 | 3.92 | 0.23 | 12.3 | 354.1 | 5.53 | 0 | 0 | 210.1 | 3.28 | 0.16 | 8.47 |
| Residual | 864 | 1390.4 | 1.61 | 1.61 | 85.8 | 5657.6 | 6.55 | 6.55 | 73.03 | 1409.6 | 1.63 | 1.63 | 83.7 |
| Total | 959 | 1793.2 | | | | 8463.4 | | | | 1856 | | | |
| T2 | | | | | | | | | | | | | |
| Island | 7 | 23.72 | 3.39 | 0.006 | 0.34 | 274.9 | 39.28 | 0.11 | 1.62 | 1.85 | 0.26 | 0 | 0 |
| Locality | 24 | 62.27 | 2.59 | 0.01 | 0.76 | 625 | 26.04 | 0.18 | 2.64 | 6.8 | 0.28 | 0 | 0 |
| Site | 64 | 137.6 | 2.15 | 0.02 | 1.23 | 1320.5 | 20.63 | 1.57 | 22.9 | 18.1 | 0.28 | 0.01 | 6.06 |
| Residual | 864 | 1649.6 | 1.91 | 1.91 | 97.67 | 4294.4 | 4.97 | 4.97 | 72.8 | 148.8 | 0.17 | 0.17 | 93.94 |
| Total | 959 | 1873.2 | | | | 6514.9 | | | | 175.6 | | | |
| T3 | | | | | | | | | | | | | |
| Island | 7 | 12.8 | 1.83 | 0 | 0 | 270.6 | 38.6 | 0 | 0 | 4.47 | 0.64 | 0 | 0 |
| Locality | 24 | 76.4 | 3.18 | 0.06 | 5.9 | 1123.9 | 46.83 | 1.31 | 18.7 | 20 | 0.83 | 0.02 | 7.29 |
| Site | 64 | 92.8 | 1.45 | 0.06 | 5.9 | 484.3 | 7.57 | 0.21 | 2.98 | 13.87 | 0.22 | 0 | 0 |
| Residual | 864 | 747.2 | 0.86 | 0.86 | 88.15 | 4734.4 | 5.48 | 5.48 | 78.3 | 214.4 | 0.25 | 0.25 | 92.71 |
| Total | 959 | 929.2 | | | | 6613.2 | | | | 252.7 | | | |

df: degrees of freedom; Ss: sum of squares; Ms: mean squares; Vc: variance components; ω^2 : magnitude of effects (presented as percentages)

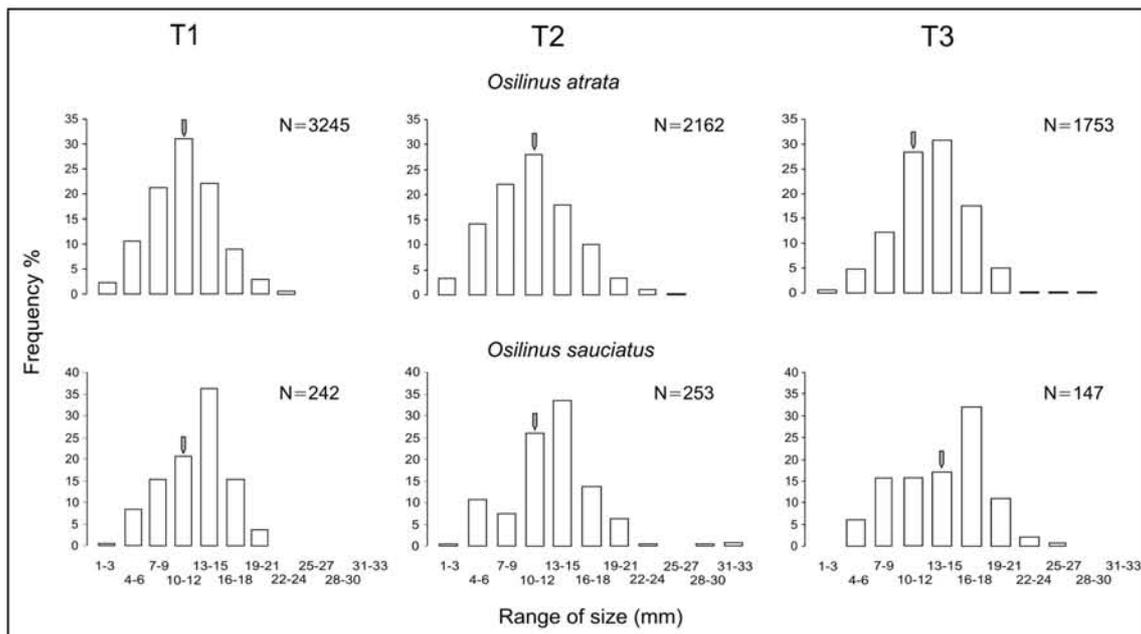


Figure 8. Size frequency diagram of *Osilinus* spp. at each sampling time. Mark indicates where the mean size is situated.

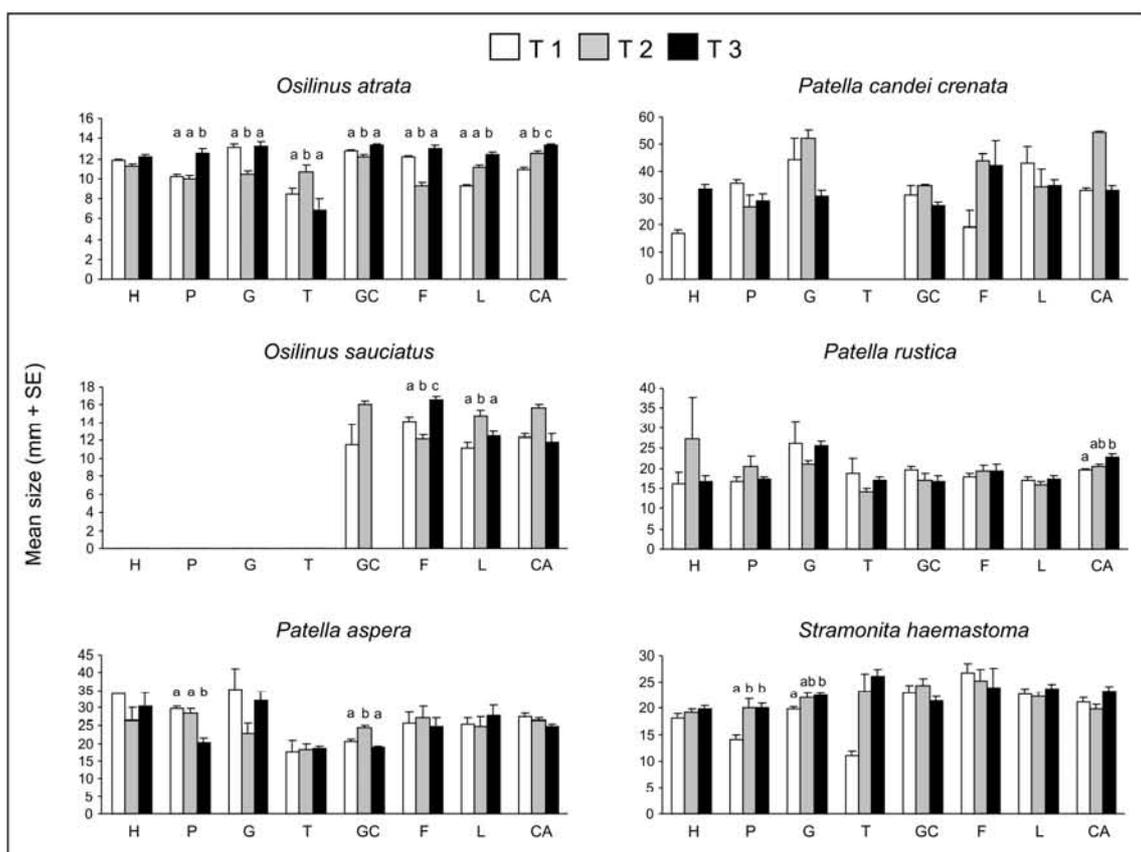


Figure 9. Mean size of the studied molluscs at each island (abbreviations as in Figure 6) and sampling time. Significant differences (CI 95 %) among times were indicated with different letters whereas the same or any letter meant no difference.

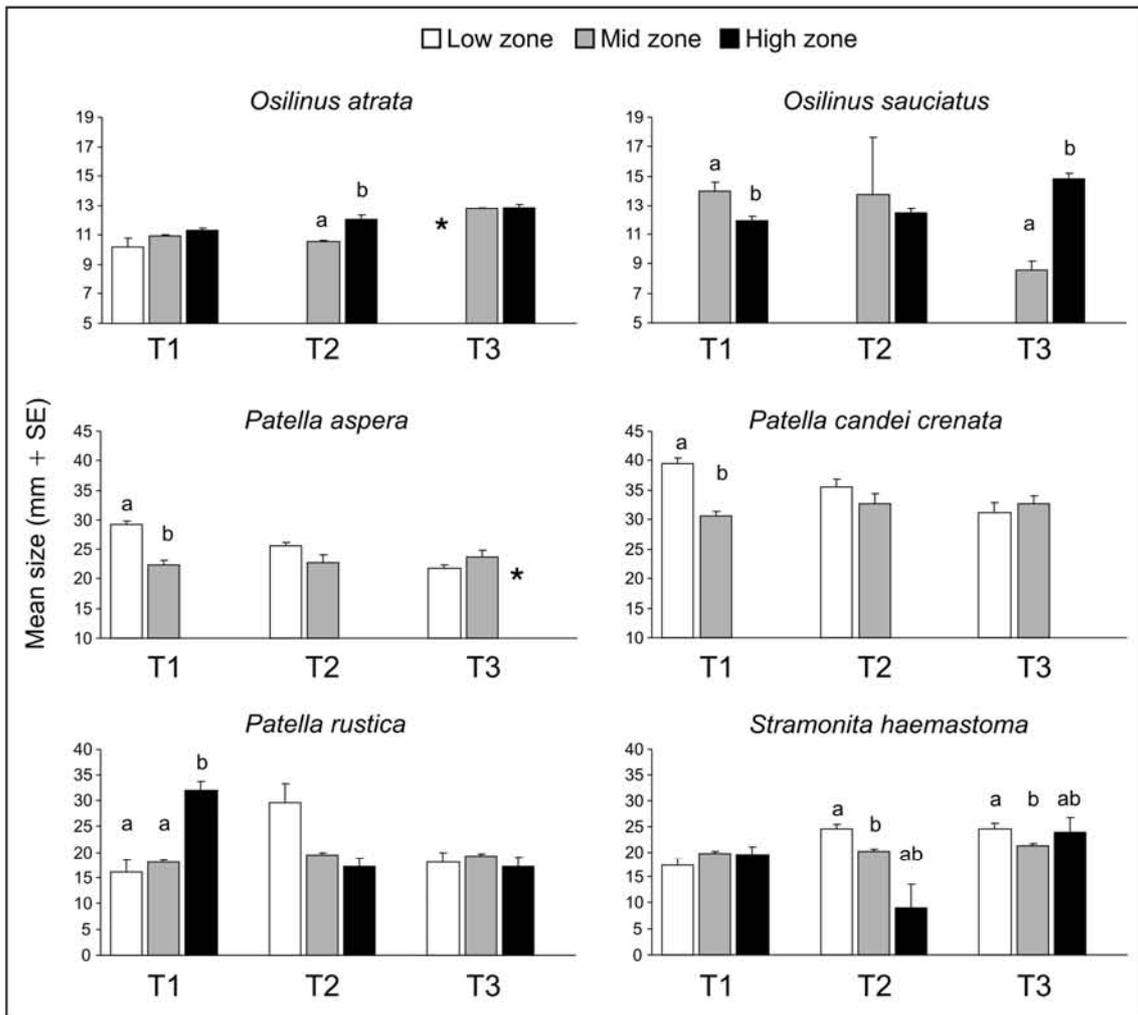


Figure 10. Mean size at each intertidal zone for the overall specimens registered per sampling time. Significant differences (CI 95 %) among intertidal zones were indicated with different letters whereas the same or any letter meant no difference. * Only one specimen.

Table 3. Comparison of mean size between pairs of islands by means of confidence intervals (95 %) (abbreviations as in Figure 6). The islands located on the left column can show a higher (>), lower (<) or similar (≈) size than those on the upper row. * The absence of specimens on any islands did not permit to perform comparisons. *Osilinus sauciatus* only existed in the eastern islands.

| | T1 | | | | | | | | T2 | | | | | | | | T3 | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|----|---|---|----|---|---|---|---|----|---|---|----|---|---|---|---|----|---|---|----|---|---|---|---|---|---|--|
| | AC | L | F | GC | T | G | P | H | AC | L | F | GC | T | G | P | H | AC | L | F | GC | T | G | P | H | | | |
| <i>Osilinus atrata</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AC | - | > | < | < | > | < | ≈ | ≈ | - | > | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | - | > | ≈ | ≈ | > | ≈ | ≈ | ≈ | > | |
| L | | - | < | < | ≈ | < | < | < | | - | ≈ | > | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | - | ≈ | > | > | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | |
| F | | | - | ≈ | > | > | > | ≈ | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | - | ≈ | > | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | |
| GC | | | | - | > | ≈ | > | > | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | > | > | | | | - | > | ≈ | ≈ | > | > | |
| T | | | | | - | > | > | > | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | - | > | ≈ | > | > | |
| G | | | | | | - | > | > | | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | | - | > | > | > | |
| P | | | | | | | - | > | | | | | | | - | ≈ | ≈ | | | | | | | - | > | > | |
| H | | | | | | | | - | | | | | | | | - | ≈ | | | | | | | | - | > | |
| <i>Osilinus sauciatus</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AC | - | ≈ | < | ≈ | | | | | - | < | ≈ | ≈ | | | | | | - | ≈ | > | * | | | | | | |
| L | | - | < | ≈ | | | | | | - | > | ≈ | | | | | | | - | > | * | | | | | | |
| F | | | - | ≈ | | | | | | | - | ≈ | | | | | | | | - | * | | | | | | |
| GC | | | | - | | | | | | | | - | | | | | | | | | - | | | | | | |
| <i>Patella aspera</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AC | - | ≈ | ≈ | > | > | ≈ | ≈ | * | - | ≈ | ≈ | ≈ | > | ≈ | ≈ | ≈ | - | ≈ | ≈ | > | > | > | > | > | ≈ | | |
| L | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | * | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | - | ≈ | > | > | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | |
| F | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | * | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | |
| GC | | | | - | ≈ | ≈ | > | * | | | | - | > | ≈ | ≈ | ≈ | | | | - | ≈ | > | ≈ | > | ≈ | | |
| T | | | | | - | ≈ | > | * | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | - | > | ≈ | ≈ | ≈ | | |
| G | | | | | | - | ≈ | * | | | | | | - | ≈ | ≈ | | | | | | - | > | ≈ | ≈ | | |
| P | | | | | | | - | * | | | | | | | - | ≈ | | | | | | | - | ≈ | ≈ | | |
| H | | | | | | | | - | | | | | | | | - | | | | | | | | - | ≈ | | |
| <i>Patella candei crenata</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AC | - | ≈ | ≈ | ≈ | * | ≈ | ≈ | > | - | ≈ | ≈ | ≈ | * | ≈ | ≈ | * | - | ≈ | ≈ | ≈ | * | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | |
| L | | - | ≈ | ≈ | * | ≈ | ≈ | > | | - | ≈ | ≈ | * | ≈ | ≈ | * | | - | ≈ | ≈ | * | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | |
| F | | | - | ≈ | * | ≈ | ≈ | ≈ | | | - | ≈ | * | ≈ | ≈ | * | | | - | ≈ | * | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | |
| GC | | | | - | * | ≈ | ≈ | ≈ | | | | - | * | ≈ | ≈ | * | | | | - | * | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | |
| T | | | | | - | * | * | * | | | | | - | * | * | * | | | | | - | * | * | * | * | | |
| G | | | | | | - | ≈ | ≈ | | | | | | - | ≈ | * | | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | |
| P | | | | | | | - | > | | | | | | | - | * | | | | | | | - | ≈ | ≈ | | |
| H | | | | | | | | - | | | | | | | | - | | | | | | | | - | ≈ | | |
| <i>Patella rustica</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AC | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | - | > | ≈ | ≈ | > | ≈ | ≈ | ≈ | - | > | ≈ | > | > | ≈ | ≈ | > | ≈ | | |
| L | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | - | ≈ | ≈ | ≈ | > | ≈ | ≈ | | - | ≈ | ≈ | ≈ | > | ≈ | ≈ | ≈ | | |
| F | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | - | ≈ | > | ≈ | ≈ | ≈ | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | |
| GC | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | | - | ≈ | > | ≈ | ≈ | ≈ | | |
| T | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | - | > | ≈ | ≈ | | | | | - | > | ≈ | ≈ | ≈ | | |
| G | | | | | | - | ≈ | ≈ | | | | | | - | ≈ | ≈ | | | | | | - | > | ≈ | ≈ | | |
| P | | | | | | | - | ≈ | | | | | | | - | ≈ | | | | | | | - | ≈ | ≈ | | |
| H | | | | | | | | - | | | | | | | | - | | | | | | | | - | ≈ | | |
| <i>Stramonita haemastoma</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| AC | - | ≈ | < | ≈ | ≈ | ≈ | > | ≈ | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | > | | |
| L | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | > | > | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | > | > | > | | |
| F | | | - | ≈ | ≈ | > | > | > | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | |
| GC | | | | - | ≈ | ≈ | > | ≈ | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | > | | | | - | > | ≈ | ≈ | ≈ | ≈ | | |
| T | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | - | ≈ | ≈ | ≈ | | | | | - | > | > | > | > | | |
| G | | | | | | - | > | ≈ | | | | | | - | ≈ | ≈ | | | | | | - | > | > | > | | |
| P | | | | | | | - | > | | | | | | | - | ≈ | | | | | | | - | ≈ | ≈ | | |
| H | | | | | | | | - | | | | | | | | - | | | | | | | | - | ≈ | | |

Table 4. Results of the analysis of variance components for the studied gastropods molluscs (except *Osilinus atrata*, see table 2).

| Source | df | Low Zone | | | | Mid Zone | | | | High Zone | | | |
|----------------------|------|----------|--------|--------|------------|----------|---------|-------|------------|-----------|--------|-------|------------|
| | | Ss | Ms | Vc | ω^2 | Ss | Ms | Vc | ω^2 | Ss | Ms | Vc | ω^2 |
| <i>O. sauciatus</i> | | | | | | | | | | | | | |
| Island | 7 | – | – | – | – | 164.3 | 23.47 | 0.03 | 0.34 | 3512.3 | 501.76 | 0.60 | 1.81 |
| Locality | 24 | – | – | – | – | 298.1 | 12.42 | 0.03 | 0.39 | 6860.8 | 285.87 | 1.76 | 5.31 |
| Site | 64 | – | – | – | – | 598.9 | 9.22 | 0.004 | 0.05 | 8141.5 | 127.21 | 3.32 | 10.02 |
| Residual | 2784 | – | – | – | – | 25281.6 | 9.08 | 9.08 | 99.23 | 76523.2 | 27.48 | 27.48 | 82.86 |
| Total | 2879 | – | | | | 26333.9 | | | | 95037.9 | | | |
| <i>P. aspera</i> | | | | | | | | | | | | | |
| Island | 7 | 4564.9 | 652.12 | 0.31 | 0.91 | 474.5 | 67.78 | 0.0 | 0.0 | 0.6 | 0.09 | 0.0 | 0.0 |
| Locality | 24 | 12981.4 | 540.89 | 5.07 | 14.87 | 2232.7 | 93.02 | 0.89 | 8.58 | 2.3 | 0.09 | 0.0 | 0.0 |
| Site | 64 | 5408.4 | 84.50 | 1.92 | 5.64 | 813.5 | 12.71 | 0.11 | 1.06 | 6.04 | 0.09 | 0.002 | 4.93 |
| Residual | 2784 | 74594.1 | 26.79 | 26.79 | 78.58 | 26163.2 | 9.39 | 9.39 | 90.36 | 102.9 | 0.04 | 0.04 | 95.07 |
| Total | 2879 | 97548.8 | | | | 29683.9 | | | | 111.9 | | | |
| <i>P. c. crenata</i> | | | | | | | | | | | | | |
| Island | 7 | 286.4 | 40.95 | 0.0 | 0.0 | 546.3 | 78.04 | 0.0 | 0.0 | – | – | – | – |
| Locality | 24 | 1050.6 | 43.77 | 0.33 | 11.02 | 2173.6 | 90.56 | 0.92 | 13.03 | – | – | – | – |
| Site | 64 | 880.4 | 13.75 | 0.38 | 12.61 | 481.4 | 7.52 | 0.05 | 0.66 | – | – | – | – |
| Residual | 2784 | 6432 | 2.31 | 2.31 | 76.37 | 17010.7 | 6.11 | 6.11 | 86.30 | – | – | – | – |
| Total | 2879 | 8649.6 | | | | 20211.9 | | | | – | | | |
| <i>P. rustica</i> | | | | | | | | | | | | | |
| Island | 7 | 2.93 | 0.42 | 0.0003 | 0.10 | 10382.8 | 1483.26 | 0.0 | 0.0 | 67.6 | 9.65 | 0.0 | 0.0 |
| Locality | 24 | 7.6 | 0.32 | 0.0 | 0.0 | 45514.4 | 1896.43 | 2.02 | 26.11 | 250.7 | 10.44 | 0.05 | 2.05 |
| Site | 64 | 20.62 | 0.32 | 0.002 | 0.82 | 4933.7 | 77.08 | 0.68 | 0.89 | 401.4 | 6.27 | 0.14 | 6.19 |
| Residual | 2784 | 718.4 | 0.26 | 0.26 | 99.08 | 157329 | 56.51 | 56.51 | 73 | 5775.5 | 2.07 | 2.07 | 91.76 |
| Total | 2879 | 749.5 | | | | 218160 | | | | 6495.2 | | | |
| <i>S. haemastoma</i> | | | | | | | | | | | | | |
| Island | 7 | 31.4 | 4.48 | 0.001 | 0.09 | 910.8 | 130.11 | 0.08 | 1.10 | 23.4 | 3.35 | 0.0 | 0.0 |
| Locality | 24 | 94.7 | 3.95 | 0.01 | 0.78 | 2402.9 | 100.12 | 0.97 | 12.87 | 96.7 | 4.03 | 0.03 | 3.44 |
| Site | 64 | 181 | 2.83 | 0.04 | 2.69 | 807.5 | 12.61 | 0.21 | 2.79 | 99.5 | 1.55 | 0.03 | 3.39 |
| Residual | 2784 | 4289.6 | 1.54 | 1.54 | 96.44 | 17508.8 | 6.29 | 6.29 | 83.24 | 2070.4 | 0.74 | 0.74 | 93.17 |
| Total | 2879 | 4596.6 | | | | 21629.9 | | | | 2290.1 | | | |

df: degrees of freedom; Ss: sum of squares; Ms: mean squares; Vc: variance component; ω^2 : magnitude of effects (presented as percentages) –: no data.

3.2.3 *Patella aspera*

Patella aspera presented a spatial distribution pattern very variable at small and intermediate scales (sites and localities respectively). This pattern was, besides, inconsistent from sampling time to sampling time at small scale but constant at intermediate scale (Table 1). This limpet species showed a variable spatial distribution along the vertical axis, which was, however, constant across islands and times (Table 1). It was more abundant on the low zone (76.13 % of the total specimens registered) than on the mid (23.76 %) and high zones (0.10 %) (Test SNK, $p < 0.05$; Fig. 11). The difference among squares (i.e. residual) was the most important source of variation, explaining for each zone more than 75 % of the total variance (Table 4). At the low zone, the differences among localities also contributed up to 15 % of the total variance.

The size range of *Patella aspera* ranged from 4 to 68 mm. Its size-structure presented a clear unimodal distribution at T3, with the 16-20 mm size class as the most frequent (Fig. 12). At T1 and T2, however, a wide range of sizes (16-35 mm) accumulated the majority of specimens (Fig. 12). Thus, this limpet showed for the entire Archipelago the following mean sizes (\pm SE): 26.90 ± 0.47 (T1), 25.21 ± 0.52 (T2) and 22.19 ± 0.44 mm (T3). The differences of mean size among times in each island were only significant at GC and P (Fig. 9). Few significant differences of mean size were also found among islands (Table 3). The mean size of *P. aspera* was larger on the low zone than on the mid zone at T1 and T2 although it was only significant at the former (Fig. 10). Although at T3 the mean size was larger on the mid zone than on the low zone, it neither was significant (Fig. 10).

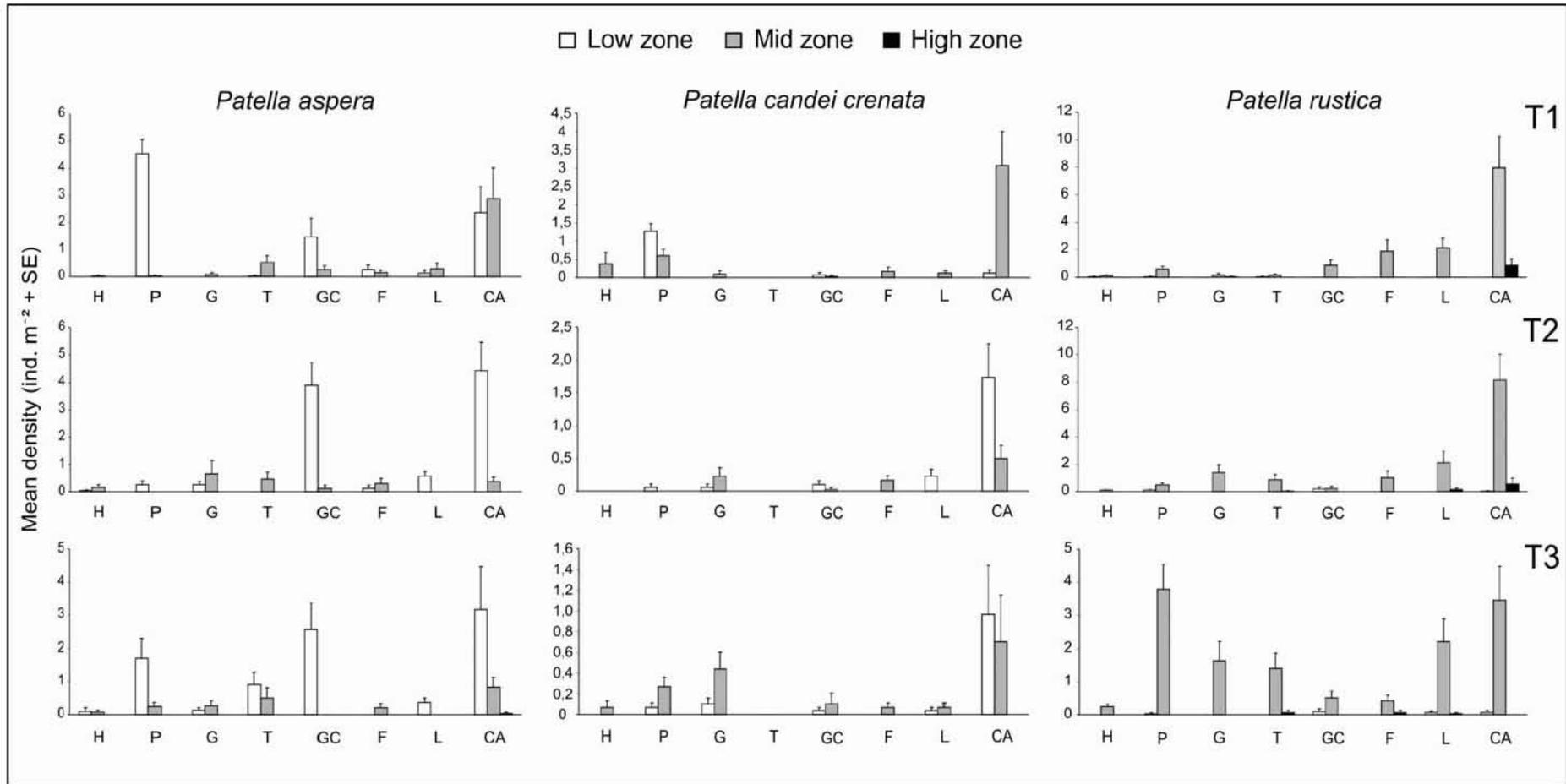


Figure 11. Mean density of *Patella* spp. at each intertidal zone per island and sampling time (abbreviations as in Figure 6).

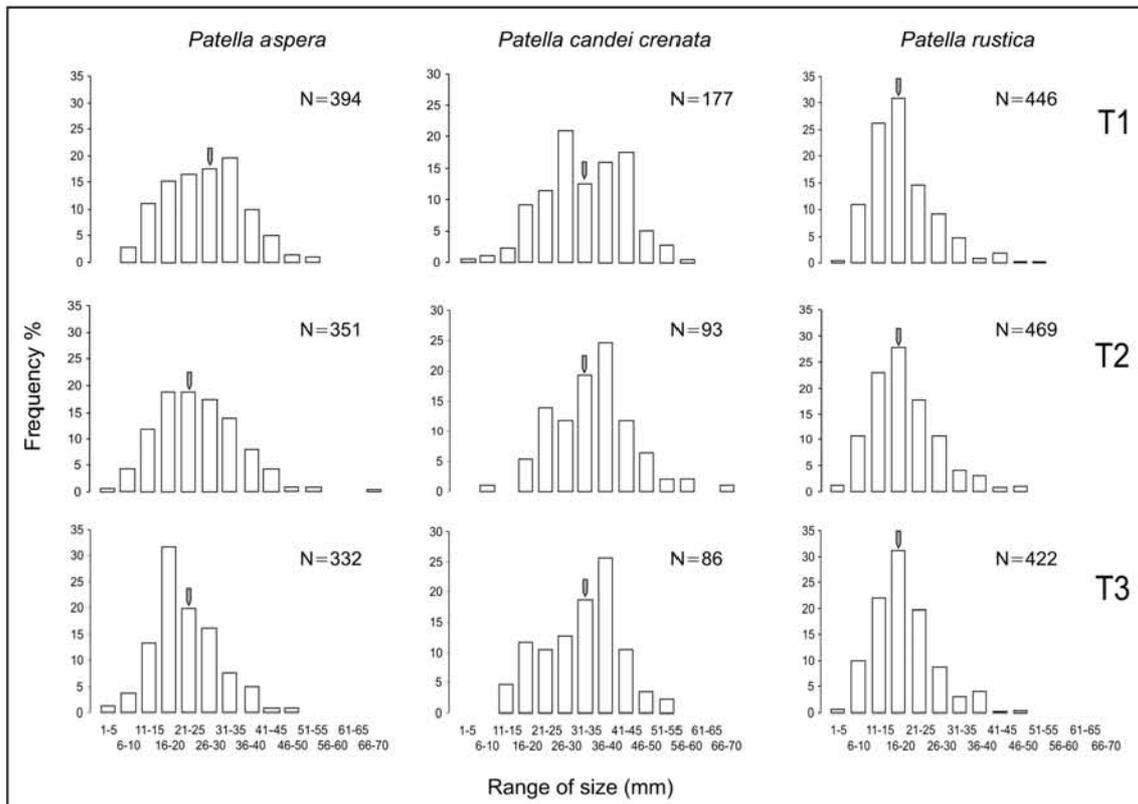


Figure 12. Size frequency diagram of *Patella* spp. at each sampling time. Mark indicates where the mean size is situated.

3.2.4 *Patella candei crenata*

Patella candei crenata presented a spatial distribution pattern very variable at small and intermediate scales (sites and localities respectively) (Table 1). This pattern was in both cases inconsistent from sampling time to sampling time (Table 1). In contrast, this limpet did not present evidences of significant differences for the intertidal zones (Table 1). It was only found on the low (40.66 % of the total registered specimens) and mid zones (59.33 %) (Fig. 11). The difference among squares (i.e. residual) was the most important source of variation, explaining more than 75 % of the total variability for the low and mid zones (Table 4). At the low zone, the factors locality and site also contributed 11 % and 13 % respectively. Moreover, at the mid zone the factor locality explained 13 %.

The size range of *Patella candei crenata* varied between 4 and 70 mm. Although this limpet showed a size class with a higher frequency at the three times (26-30 mm at T1; 36-40 mm at T2 y T3), it seems to present, specially at T1, a second mode (Fig. 12). Despite this, it presented for the overall study the following mean sizes: 32.75 ± 0.77 mm (T1), 34.62 ± 1.04 (T2) and 32.05 ± 1.03 mm (T3) (mean \pm SE). This limpet did not present significant differences on mean size from sampling time to sampling time at any islands (Fig. 9). Similarly, any difference among islands was found at T2 and T3 (Table 3). The only significant differences found at T1 were that CA, L and P presented mean sizes higher than H (Table 3). The mean size of *P. candei crenata* was larger on the low zone than on the mid zone at T1 and T2 although it was only significant at the former (Fig. 10).

3.2.5 *Patella rustica*

Patella rustica showed a spatial distribution pattern very variable at small and intermediate scales (sites and localities respectively) (Table 1). This pattern was in both cases inconsistent from sampling time to sampling time (Table 1). The abundance of this limpet also varied between intertidal zones but this variability was constant across islands and sampling times (Table 1). *P. rustica* was mainly abundant on the mid zone (94.31 % of the total registered specimens) (Test SNK, $p < 0.05$; Fig. 8). The main source of variation was the difference among squares (i.e. residual), explaining more than 90 % at the low and high zones, whereas 73 % at the mid zone. Similarly, the factor locality contributed up to 26 % of the total variance at the mid zone (Table 3).

The size range of *Patella rustica* ranged from 3 to 53 mm. Its size-structure presented a unimodal distribution with the 16-20 mm size class as the most frequent at

the three times (Fig. 12). Thus, this limpet showed for the overall Archipelago the following mean sizes (\pm SE): 18.84 ± 0.36 (T1), 19.32 ± 0.38 (T2) and 19.18 ± 0.36 mm (T3). The only significant differences on mean size from sampling time to sampling time were found at the CA (Fig. 10). Any dissimilarity on mean size was found among islands at T1, whereas, very few significant differences were found at T2 and T3 (Table 3). *P. rustica* showed a mean size significantly larger on the high zone than on the mid and low zone at T1 (Fig. 10). It, however, did not present significant differences at T2 and T3.

3.2.6 *Stramonita haemastoma*

Stramonita haemastoma showed a variable distribution pattern at small and intermediate scales (sites and localities respectively); with patterns even inconsistent from sampling time to sampling time (Table 1). This muricid presented different abundances at each intertidal zone but this pattern was constant across islands and times (Table 1). It was more abundant on the mid zone (76.92 % of the total registered specimens) than on the low (17.78 %) and high zones (5.28 %) (Test SNK, $p < 0.01$; Fig. 13). Again, the difference among squares (i.e. residual) was the most important source of variation, contributing in each case more than 80 % on the total variability (Table 4). Likewise, differences among localities explained approximately 13 % at the mid zone (Table 4).

The size range of *Stramonita haemastoma* varied between 4 mm and 49 mm. Its size-structure presented a unimodal distribution at the three sampling times (Fig. 14). At T1 and T3, the most frequent size class was 21-25 mm while the 16-20 mm class at T2. Thus, this whelk showed for the overall study the following sizes: 19.24 ± 0.38 (T1),

21.21 ± 0.39 (T2) and 22 ± 0.32 (T3) (mean \pm SE). Few significant differences on mean size were found from sampling time to sampling time (only in P and G; Fig. 9). The mean size at P and H were majority the shortest ones at three times (Table 3). *S. haemastoma* presented a larger mean size on the low zone than on the mid zone at T2 and T3, although the sizes on both zones were not significantly different as regards the high zone.

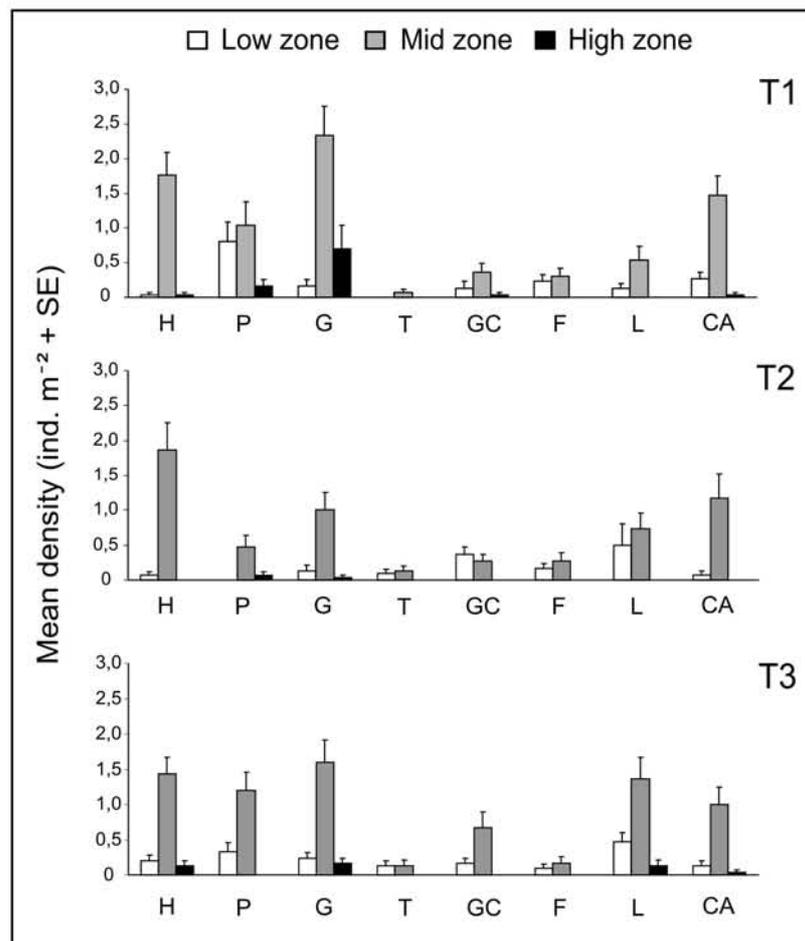


Figure 13. Mean density of *Stramonita haemastoma* at each intertidal zone per island and sampling time (abbreviations as in figure 6).

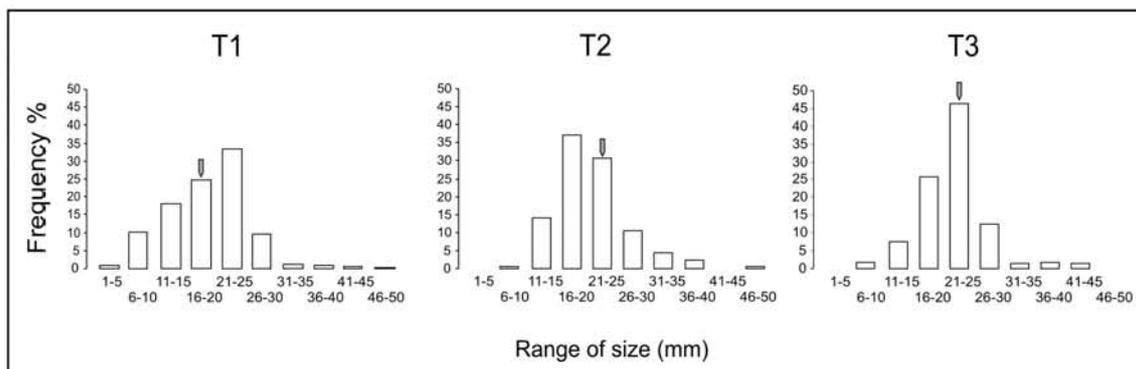


Figure 14. Size frequency diagram of *Stramonita haemastoma* at each sampling time. Mark indicates where the mean size is situated.

4. DISCUSSION

The results of this study indicate that the spatial patterns of distribution and abundance of the organisms on the rocky shores of the Canary Archipelago are very variable horizontally. Therefore, any future description of such patterns must include horizontal sources of variation independently of the investigated scale. The spatial patterns were very variable at small scales (sites separated by 10s of m), being mainly inconsistent from time to time. Although the differences among sites did not explain much the found variability, the differences among squares (separated from 10s of cm to 10 m) were the most important source of variation for every species. This observation – a high variability of the spatial patterns of distribution and abundance at small scales – has been similarly shown in many studies across the world (e.g. Chapman, 1994; Archambault & Bourget, 1996; Underwood & Chapman, 1996, 1998; Menconi *et al.*, 1999; Benedetti-Cecchi, 2001; Underwood, 2004; Frascchetti *et al.*, 2005), including the Canarian Archipelago (Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005, 2009; Tuya *et al.*, 2006). Thus, it has been considered as a general rule of the invertebrate communities on marine coastal habitats (Anderson *et al.*, 2005; Frascchetti *et al.*, 2005).

On the other hand, the studied species showed a higher abundance on a particular shore level than on the others (Fig. 15). *Osilinus atrata*, *Patella rustica* and *Stramonita haemastoma* were more abundant (≈ 80 , > 90 and > 75 % of the total registered specimens respectively) on the mid intertidal zone; *Patella candei crenata* was also more abundant on that zone (≈ 60 %) but without significant differences with respect to the low zone (≈ 40 %); *Osilinus sauciatus* and *Patella aspera* were, however, more abundant on the high (> 80 %) and low zones (> 75 %), respectively (Fig. 15). Every these vertical patterns were constant for the analyzed islands (separated from 10s to 100s of km) and from time to time. Furthermore, these results widely confirm the previous descriptions for the Canarian Archipelago (Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005, 2006, 2009) and, for some species (*Osilinus* spp., *P. aspera* and *P. rustica*), the patterns were even consistent with those from other coastal regions (e.g. Portugal, The Mediterranean, north of the Iberian Peninsula and Ireland; Della Santina & Chelazzi, 1991; Peña, 1995; Delany *et al.*, 1998; Menconi *et al.*, 1999; Boaventura *et al.*, 2002b). Although *O. atrata* showed some differences of abundance between the high and low zones from time to time, however, these do not seem important due to the scarce of specimens registered in the low zone; this fact could be related with the vertical migrations of this species (see below).

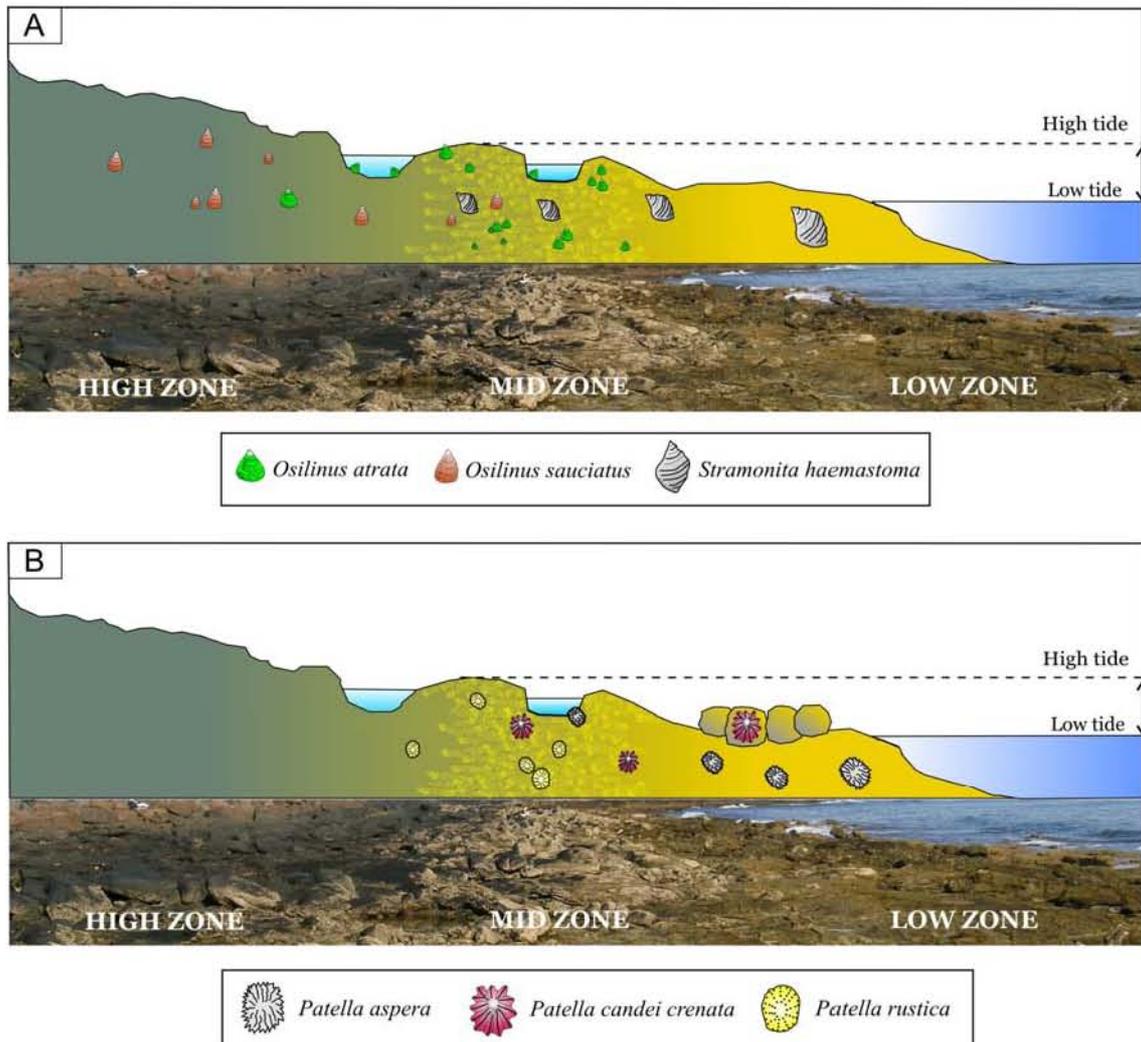


Figure 15. Spatial distribution patterns of the trochids (A), the whelk (A) and the limpets (B) along the vertical axis on the rocky coasts of the Canary Islands.

The patterns described here and in previous experimental works may provide some clues on the causes of spatial variation in the canary shores. However, further specific experimental investigations are necessary to know which are exactly their importances as sources of variation. As well as the effect of the environmental stress, as for example, wave action with the large tide amplitude (up to 3 m), other factors seem to have a great power to explain the spatial patterns of distribution and abundance at small scales (less than meters to 10s of m) both in the horizontal and vertical axes. Between those factors, physical characteristics of the habitat have been widely considered (e.g.

Raffaelli & Hughes, 1978; Bergeron & Bourget, 1986; Chapman, 1994; Archambault & Bourget, 1996; Beck, 2000; Underwood, 2004). These may initially influence on the settlement of multitude of benthic organisms (Crisp & Barnes, 1954; Lemire & Bourget, 1996; Walters & Wethey, 1996; Lapointe & Bourget, 1999). Thus, volcanic substratum, as that in the studied platforms, is considered more irregular than sedimentary one, which may affect not only settlement of larvae but growth of certain microalgae that serve as food (Cantos *et al.*, 1994). Particularly, the limpets inhabited on substrates with different kind of surfaces: rough (principally *Patella aspera* and *Patella rustica*) and smooth (*Patella candei crenata*) (personal observations). Similarly, the presence of different structural elements (e.g. crevices, holes, etc.) on the substratum provide suitable refuges against environmental stress or predation (Raffaelli & Hughes, 1978; Menge & Lubchenco, 1981; Leviten & Khon, 1980; Atkinson & Newbury, 1984; Garrity, 1984; Moreno *et al.*, 1993; William & Morritt, 1995; Archambault & Bourget, 1996; Fig. 16). These elements may affect density and even to extend distribution in the vertical axis, as for example, to upper zones (Raffaelli & Hughes, 1978; Bergeron & Bourget, 1986; Menconi *et al.*, 1999; Beck, 2000; Rilov *et al.*, 2001). Although the complexity of the substratum (percentage of crevices and holes) varied among intertidal zones in this study, this was higher on the mid zone, just the zone in which every species occurred and four of them got their greatest abundances. This may be related to a soft effect of the physical (e.g. desiccation) and biological (e.g. predation) factors on the mid zone, which especially occurred on the high and low zones, respectively; such factors not only influence on the distribution limits but also permit the coexistent of the organisms (Connell, 1972; Menge & Sutherland, 1987; Tomanek & Helmuth, 2002). *Osilinus* spp., *P. rustica* and *Stramonita haemastoma* were the most frequent inhabitants in crevices and holes (Fig. 16). This increased the abundance of the limpet and the

whelk on the mediterranean shores and even the vertical distribution of the limpet (Menconi *et al.* 1999; Rilov *et al.*, 2001). It is important to note that *O. atrata*, *P. aspera* and *S. haemastoma* also used rocky pools as refuge (personal observations). *O. atrata* frequently occupied them on the mid and high zones, probably due to its less preparation to resist desiccation than *O. sauciatus* (Ramírez *et al.*, 2005) during low tide. *P. aspera* showed a similar pattern than those observed by Delany *et al.* (1998) for *Patella ulyssiponensis* (\approx *P. aspera*); that is, its restricted distribution to the low zone could extend to the higher zones on the coasts by the occupation of rocky pools permanently. *S. haemastoma*, however, frequently occupied pools on the low zone, perhaps due to its food preferences or to protect itself against the wave action.



Figure 16. Crevice on the mid zone occupied by troquids (*Osilinus atrata*) and limpets (*Patella rustica*).

Patterns of distribution and abundance of intertidal animals are frequently explained by the behaviour of the species under consideration. Large mobile animals, particularly molluscs, daily change of habitat for feeding or taking refuge, with variations depending on tide, hour or season (Frank, 1965; Branch, 1975; Garrity, 1984; Fairweather, 1988; Della Santina & Chelazzi, 1991; Evans & Williams, 1991; Moreno *et al.*, 1993; Takada, 1996; Chapman, 2000). Studied species were inactive at low tide,

keeping into refuges or forming groups of many specimens (Fig. 17). Aggregation by intertidal molluscs is a phenomenon frequently observed, which may be originated by different reasons, as for example: wave action, desiccation, predation or weather (Gosselin & Bourget, 1989; Chapman, 1995; 1998; Chapman & Underwood, 1996; Coleman *et al.*, 2004, 2006a). By rising and falling tides the troquids were very active (Fig. 16D), the whelk in few occasions, whereas, the limpets did not show detectable movements at first sight. These observations seem to indicate that the limpets and the whelk mainly move at high tide, as it has been previously observed for *Patella coerulea* (Della Santina & Chelazzi, 1991), *Cellana grata* (Williams & Morritt, 1995), *Stramonita haemastoma* or *Thais* spp. (Connell, 1970; Fairweather, 1988; Rilov *et al.*, 2001; Papp & Duarte, 2001); nevertheless, their movements may be limited by subtidal predators (Garrity, 1984). Splash of waves can also act as precursor of movement for limpets (Garrity, 1984; Williams & Morritt, 1995). Thus, for example, foraging of *Patella rustica* is strongly dependent on greater wave action in the Mediterranean what it does not seem occur at high tide (Della Santina & Chelazzi, 1991). In the Canarian Archipelago, the foraging of *Patella candei crenata* seems to be similarly related with the splash of waves, both by day and by night (Ramírez, 2008). On the other hand, there are long-term vertical migrations related with seasons, growth and reproduction (Smith & Newell, 1955; Connell, 1961, 1970; Frank, 1965; Branch, 1975; Moreno *et al.*, 1993; Williams & Morritt, 1995; Takada, 1996). Despite the consistent of spatial patterns in the vertical axis, *Osilinus atrata* presented, for the overall Archipelago, a higher abundance on the upper zone in summer (T1 and T3) than on the low zone, but significant differences were not detected in winter (T2). This result seems to respond to a vertical migration, in which specimens move up in summer whereas move down in winter.

Takada (1996) registered for the trochid *Monodonta labio* the same pattern, which was related with a seasonal fluctuation in the abundance of microalgae.



Figure 17. Aggregation by trochids (*Osilinus sauciatus*) may reduce the effect of desiccation and wave action.

Many patterns of distribution and abundance are also explained by the relations between species – that is, positive and negative interactions – which respond to limiting factors like space or food (Dayton, 1971; Branch, 1975, 1976; Steneck, 1982; Fletcher & Underwood, 1987; Della Santina & Chelazzi, 1991; Johnson *et al.*, 1997; Delany *et al.*, 2002; Dunmore & Schiel, 2003; Arrontes *et al.*, 2004). Thus, when dominant organisms (e.g. turf-forming, encrusting algae or barnacles) are removed from the substratum, other species (e.g. limpets) can extend their vertical range of distribution or change their local abundance (Benedetti-Cecchi *et al.*, 1999). Similarly, removals among very closed species may originate both changes on their patterns of distribution or food preferences (Branch, 1976; Della Santini & Chelazzi, 1991; Todgham *et al.*,

1997) and variations on mortality, size or weight (Boaventura *et al.*, 2002a). In this case, *Patella aspera* mainly occurred on substrates covered by crustose coralline algae (Fig. 18), even in the rocky pools. It is known that these kind of algae influence on the distribution and abundance – increase the settlement of larvae or serve as food – of *Patella ulyssiponensis* (Delany *et al.*, 1998, 2002), as well as other limpets (e.g. *Tectura testudinalis*, Steneck, 1982; see Delany *et al.*, 2002 for more examples). *Patella candei crenata* showed, however, a wide distribution that demonstrates its plasticity to adapt to different environments and even to different types of food. *P. aspera* and *P. candei crenata* may also inhabit in subtidal environments. Therefore, *P. candei crenata* can be considered a generalist species by its ability to recruit growth and reproduce in different intertidal and subtidal habitats. On the contrary, *Patella rustica* showed a restricted distribution to emerge zones, where it was mainly observed in presence of the barnacle *Chthamalus stellatus* (Fig. 18). The distribution of many species of limpets (e.g. *Patella granularis*, *Cellana ornata*, *Lottia digitalis*, etc.) is correlated with those of barnacles (Branch, 1976; Wootton, 1993; see Dunmore & Schiel, 2003 for more examples). This association can result in both positive and negative effects on limpet populations. While the heterogeneous surface provided by barnacles can reduce the physical stresses of desiccation and wave action (Wootton, 1993; Dunmore & Schiel, 2003), the presence of barnacles can also depress size, growth, reproductive output or reduce the available area to forage of limpets (Branch, 1976; Wootton, 1993; Benedetti-Cecchi *et al.*, 1999-390; Dunmore & Schiel, 2003). Particularly, *P. rustica* has shown an irregular foraging, possibly a higher metabolic efficiency than other limpets (Della Santina & Chelazzi, 1991) and a highly synchronized spawning once a year (Peña *et al.*, 1987; Peña, 1995). On the other hand, the troquids, as the limpets, also showed a vertical segregation (see above) that could minimize the interspecific competition by space and/or food. On the

contrary, any significant interaction was observed for *Stramonita haemastoma*. As well as food, in some occasions do not considered as limiting factor for this species (Rilov *et al.*, 2001), the abundance of predator whelks may be greatly variable due to physical factors (e.g. Menge, 1978; Menge *et al.*, 1994; Rilov *et al.*, 2001).



Figure 18. *Patella aspera* (left picture) and *Patella rustica* (right picture) showed interaction with crustose coralline algae and barnacles on the low and mid zones, respectively.

The spatial patterns of distribution and abundance were very variable at intermediate scales (localities separated by 10s of km), being mainly inconsistent from time to time. Frequently, the differences among localities explained the found variability better than those among sites, especially for the mid zone. This result probably indicate that factors occurring at intermediate scales have a great influence on the organization of the intertidal zones – that is, on the dominant organisms (e.g. barnacles) of each zone – and, thus, on the rest of species inhabiting on them. Several factors may account for the observed patterns, as for example, variations occurred among islands (see below the details) due to geophysical (e.g. age) and oceanographic conditions (e.g. bottom-up processes), which may reproduce on each island. Furthermore, wave exposure may change greatly depending on the orientation

(Benedetti *et al.*, 2003) that affect the distribution of the organisms (Harley & Helmuth, 2003). In this case, there was a clear differentiation between north-face and south-face of the islands. On the other hand, variations in the recruitment (and/or mortality) produce changes on the abundance of organisms from one shore to the other, especially on intertidal species, which disperse via a planktonic larval stage but having a limited adult mobility (Underwood & Chapman, 1996). It has been proved that organisms with this kind of dispersion have a greater variability at large scales (between shores) than those with direct development (Johnson *et al.* 2001). Therefore, since analyzed species disperse via planktonic larvae (Liu *et al.*, 1991; Peña, 1995; Nuñez, 1995a), issues about recruitment seem to be related with the high variability registered among localities. Moreover, anthropogenic impacts (e.g. harvesting) that vary depending on accessibility, legal protection (e.g. marine protected area), vigilance, etc. may originate large differences at these scales of investigation (see the second chapter of this thesis).

When the scale of observation increased, up to islands separated from 10s to 100s of km, spatial variation decreased, occurring spatial patterns more stable. It has been a common pattern in the previous studies (Fraschetti *et al.*, 2005) including those in the Canarian Archipelago (Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005, 2009; Tuya *et al.*, 2006). However, several factors like geophysical differences or oceanographic conditions must be taken into consideration as potential sources of variation at large scales (Bustamante & Branch, 1996; Benedetti-Cecchi *et al.*, 2001a, b; Menge, 2000; Broitman *et al.*, 2001; Denny *et al.*, 2004), even generating differences between islands and continents (Benedetti-Cecchi *et al.*, 2003, Ramírez *et al.*, 2009). In this case, only *Osilinus sauciatus* showed significant differences among islands, besides a restricted distribution on the eastern islands. These results seem to be related with the availability

of habitat, that is, extensive platforms with smooth slope, specially the high zone. The presence of more extensive intertidal platforms along the eastern islands (as observed) may favour the dissipation of wave energy, larval settlement, available of food and even the apparition (i.e. speciation) of both trochids in the past (Ramírez *et al.*, 2005). On the other hand, recent studies suggest that bottom-up processes can have important effects on rocky intertidal community structure (e.g. Bustamante & Branch, 1996; Connolly & Roughgarden, 1998; Menge *et al.*, 1999; Menge, 2000; Broitman *et al.*, 2001; Nielsen & Navarrette, 2004; Blanchette *et al.*, 2006). The location of the Canarian Archipelago along the NACTZ (*Northwest African Coastal Transition Zone*) makes rocky intertidal populations highly susceptible to respond to the bottom-up processes (nutrients and productivity), particularly those on the eastern islands (Llinás *et al.*, 1994; Pacheco & Hernández-Guerra, 1999; Davenport *et al.*, 2002; Fig. 19). This phenomenon may even reproduce at local scale due to the geomorphology of the coastline, as for example, on the west coast of F and L. Previously, Tuya *et al.* (2006) showed that trochids seemed to respond to the bottom-up effects, but it could not be prove for the heavily collected grazers as limpets. They supposed that a top-down force (control by consumers), like collection by humans, could mask the expected bottom-up regulation of intertidal populations. The registered results for trochids and limpets in this study were very similar to those found by Tuya *et al.* (2006); in the case of the muricid, it presented, in general, a higher abundance on the western islands, much less affected by the bottom-up effects. Therefore, the factors occurring at small and intermediate scales, probably related with top-down processes, must have a great power to explain the spatial pattern of distribution and abundance on the canary rocky shores. Moreover, despite the large abundance of limpets in CA, significant differences were not found among islands,

perhaps due to the high variability within of them, that could obscure this detection (see the second chapter of this thesis).

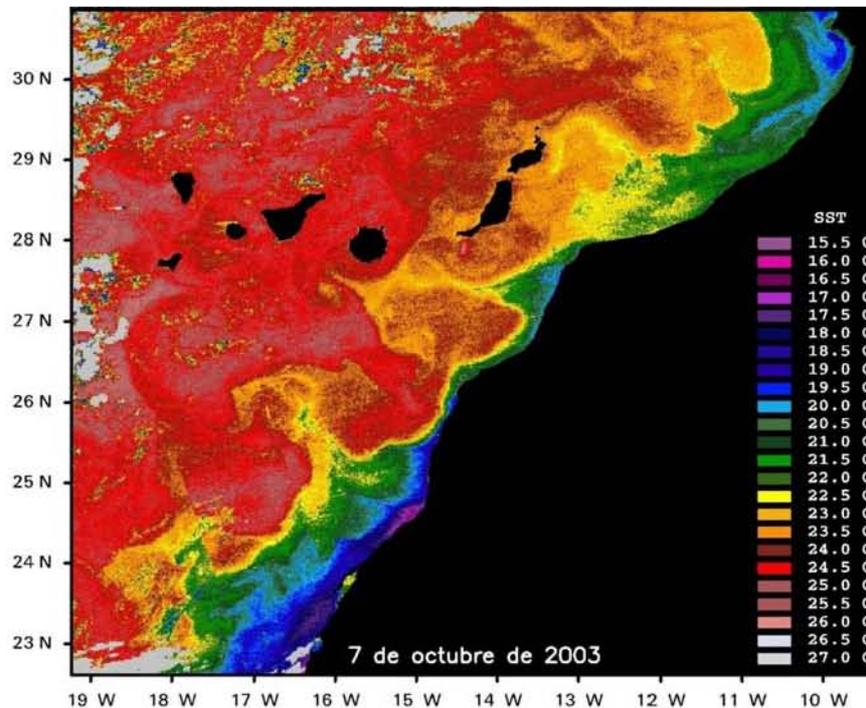


Figure 19. Coastal up-welling occurring at the northwest of Africa provokes the ascend of sub-superficial cold and rich waters to the surface which constantly reach the Canarian Archipelago (e.g. Llinás *et al.*, 1994; Davenport *et al.*, 2002). The image above shows the sea surface temperature which is several degrees lower on the eastern than on the western islands. Image provided by SEAS-Canarias (ULPGC).

Time was merely important as interaction at small and intermediate scales. Only the abundance of *Osilinus atrata* varied significantly from time to time, showing a decrease from T1 to T3. This result could be caused by a continuous harvesting by humans or fails in the recruitment. Thus, the considered temporal variation could not be sufficient to detect differences between summer (T1 and T3) and winter (T2). Nevertheless, climate in the Canary Archipelago is mild (almost tropical), showing slight seasonally changes with two seasons more variable, summer and winter. Therefore, to contrast if these seasonally variations are sufficient or not to detect

significant differences from season to season, more samplings are necessary during the year and repeat them several years.

The studied species showed sizes very variable for the sources of considered variation (time, island and zone) although the low registered abundance for the majority of species, possibly, obscured the detection of significant differences. The size differences among times and islands did not show any specific pattern, whereas a shore-level size gradient may be established for some species. In this sense, Vermeij (1972) indicated that intertidal molluscs show two intraspecific size distribution patterns, with an increase in size towards the upper intertidal for species living higher on the shore, an the opposite trend for species that live in the lower intertidal. These gradients are generally related to different mortality of smaller gastropods mainly due to desiccation in upper zones and predation in lower ones (Vermeij, 1972). In this case, *Osilinus atrata*, *Osilinus sauciatus* and *Patella rustica* should have been larger on the high zone, although only the former showed this pattern with a greater clarity than the rest (ver Fig. 10); pattern which was just previously detected for both troquids (Ramírez *et al.*, 2005). On the contrary, *Patella aspera*, *Patella candei crenata* and *Stramonita haemastoma* seem to be larger on the low zone. It is known that these limpets are even larger in subtidal than intertidal habitats (Nuñez, 1995a), whereas, in a previous study, the whelk did not show size differences among the intertidal zones (Ramírez *et al.* 2009).

Some of the previous dissimilarities and the high registered variability indicate that multitude of factors (e.g. wave action, vertical migrations, competitive interactions, food availability, collection by humans, etc.) may influence on size of studied molluscs. On the one hand, wave forces may limit the size of intertidal organisms (Denny *et al.*,

1985; Boulding, 1990), that provoke differences between exposed (small specimens) and sheltered shores (big specimens) (e.g. litorinids, Struhsaker, 1968; limpets, Todgham *et al.*, 1997; whelks, Richardson & Brown, 1990; Brown *et al.*, 2004). In this case, the limpets and the muricid showed clearer differences of size between exposed and sheltered shores than the trochids (personal observations). The own morphology of the trochids, however, correspond with those of organisms from exposed and sheltered shores (see Ramírez *et al.*, 2005), that also indicate their preferences of habitat both horizontal and vertically. On the other hand, vertical migrations (see references above) and differential growth depending on the shore levels (e.g. Sutherland, 1970; Takada, 1995, 1996) may generate differences on the vertical size gradient. *Osilinus atrata* – only species with a possible vertical migration depending on data of abundance – did not show a different vertical size gradient from time to time; nevertheless, for it and the rest of the species could detected such gradient (even among subtidal and intertidal habitats) if a specific studied about this issue was considered. Furthermore, greater densities of limpets result in decrease shell growth (Marshall & Keough, 1994; Boaventura *et al.*, 2002a; Dunmore & Schiel, 2003). This can be especially observed for *Patella aspera* (see Fig. 18) and, sometimes, for *Patella rustica* (Fig. 19). The presence of barnacles may also depress the size of *P. rustica* (Fig. 17; see references above) and *Patella candei crenata*,; for the last one only when inhabits on the mid zone. Similarly, growth of intertidal animals may decrease depending on the availability of food (Mckillup & Butler, 1983; Burrows & Hughes, 1990; Ota & Tokeshi, 2000), especially for predator whelks like *Stramonita haemastoma* (see Ramírez *et al.*, 2009). Furthermore, it is known that human action may drastically reduce size of many marine species with food interest, between those are found the considered species here (see the second chapter of this thesis).

Finally, the size frequency diagrams did not show notable changes among sampling times and neither seem reflect the reproductive periods, in which, for example, increase young specimens. Size distributions were mainly unimodal and the most frequent size ranges similar to those previously obtained (Nuñez, 1995a, b; Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005; 2009). This could indicate, on the one hand, that spawning mainly occurs once a year and with a high synchronization (specially for *Patella rustica*, *Osilinus* spp. and *Stramonnita haemastoma*), whereas, on the other hand, the absence of a notable increase of size throughout time. In this sense, reproductive cycles for the studied species have not been completely studied in the Canarian Archipelago (Nuñez, 1995a) and knowledge as for growth are even more scarce. Particularly, it was found that the muricid shows a size range more reduce on the insular systems, like the Canaries (as it was observed), as regards continental areas (Ramírez *et al.*, 2009). Furthermore, for every species, size frequency diagrams showed a clear positive asymmetry that implies a low abundance of the largest specimens. This probably indicates that human predation have been both intense and frequent (Navarro *et al.*, 2005; Ramírez *et al.*, 2005, 2008; see the second chapter of this thesis).

5. REFERENCES

See the list of references in the chapter 1.

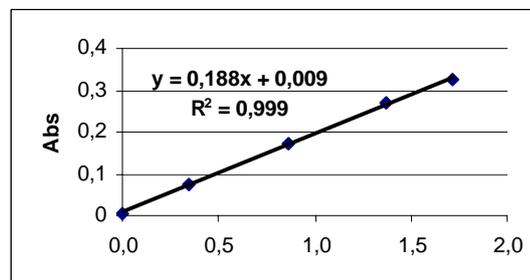
Anexo

B

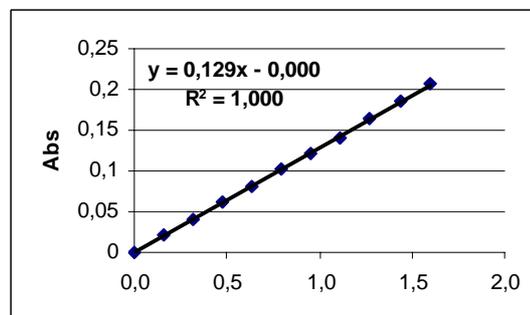
Capítulo 3

- Curvas de calibración para los metales estudiados:

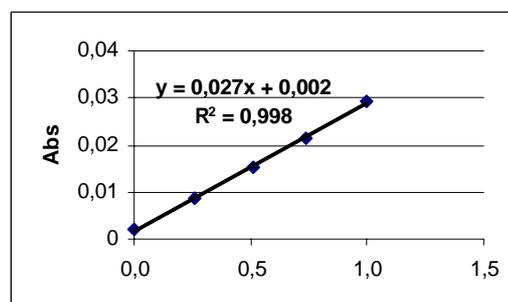
| Cadmio | Concentración (µg/L) | Abs | %RSD |
|----------|----------------------|--------|------|
| CERO | 0 | 0,0058 | 0,8 |
| PATRÓN 1 | 0,3434 | 0,0747 | 4,5 |
| PATRÓN 2 | 0,8584 | 0,171 | 2,9 |
| PATRÓN 3 | 1,3734 | 0,2696 | 3,1 |
| PATRÓN 4 | 1,7168 | 0,327 | 3,1 |



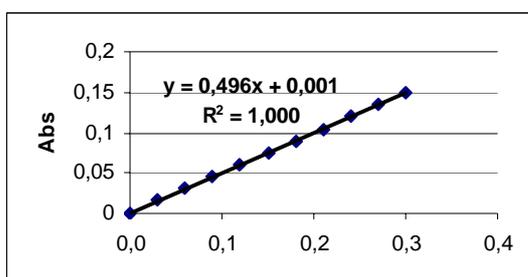
| Cobre | Concentración (mg/L) | Abs | %RSD |
|----------|----------------------|--------|------|
| CERO | 0 | 0,0001 | >100 |
| PATRÓN 1 | 0,1593 | 0,0218 | 2,2 |
| PATRÓN 2 | 0,3187 | 0,0416 | 0,5 |
| PATRÓN 3 | 0,478 | 0,0609 | 0,5 |
| PATRÓN 4 | 0,6374 | 0,0811 | 2,8 |
| PATRÓN 5 | 0,7967 | 0,1013 | 0,8 |
| PATRÓN 6 | 0,956 | 0,1209 | 0,6 |
| PATRÓN 7 | 1,1154 | 0,1415 | 1,2 |
| PATRÓN 8 | 1,2747 | 0,1636 | 0,9 |
| PATRÓN 9 | 1,4341 | 0,1854 | 0,5 |
| PATRÓN10 | 1,5934 | 0,2068 | 0,4 |



| Plomo | Concentración (µg/L) | Abs | %RSD |
|----------|----------------------|--------|------|
| CERO | 0 | 0,0022 | 15,9 |
| PATRÓN 1 | 0,26 | 0,0086 | 11 |
| PATRÓN 2 | 0,51 | 0,0154 | 3,1 |
| PATRÓN 3 | 0,74 | 0,0213 | 5,8 |
| PATRÓN 4 | 1 | 0,0294 | 2,2 |



| Zinc | Concentración (mg/L) | Abs | %RSD |
|----------|----------------------|---------|------|
| CERO | 0 | -0,0001 | >100 |
| PATRÓN 1 | 0,03 | 0,0162 | 2,8 |
| PATRÓN 2 | 0,06 | 0,0311 | 2,9 |
| PATRÓN 3 | 0,09 | 0,0467 | 1,9 |
| PATRÓN 4 | 0,12 | 0,0605 | 4,6 |
| PATRÓN 5 | 0,15 | 0,0753 | 0,9 |
| PATRÓN 6 | 0,18 | 0,0887 | 0,7 |
| PATRÓN 7 | 0,21 | 0,1027 | 1,1 |
| PATRÓN 8 | 0,24 | 0,12 | 0,7 |
| PATRÓN 9 | 0,27 | 0,1358 | 1,6 |
| PATRÓN10 | 0,3 | 0,1502 | 0,7 |



▪ Conjunto total de datos registrados sobre *Osilinus atrata*:

| LOCALIDAD | CÓDIGO | ALTO | ANCHO | SEXO | PESO | DILUCIÓN | Cd | Cu | Pb | Zn | | |
|-----------|--------|------------|-------|-------|--------|----------|-------|-------|-------|------|-------|-------|
| Locality | Code | High | Width | Sex | Weight | Dilution | | | | | | |
| 1 | 1 | Ac1 Oa17 a | 17 | 17 | 2 | 0,1239 | 9/100 | | 15,82 | 0,25 | 25,34 | |
| 2 | 1 | Ac1 Oa19 a | 19 | 19 | 1 | 0,1382 | 9/100 | 10,17 | 19,25 | | 35,75 | |
| 3 | 1 | Ac1 Oa22 a | 22 | 21 | 1 | 0,2496 | 9/100 | 25,79 | 25,20 | 0,33 | 31,37 | |
| 4 | 1 | Ac1 Oa22 e | 22 | 24 | 1 | 0,3537 | 9/100 | 18,28 | 6,30 | 0,18 | 27,91 | |
| 5 | 1 | Ac1 Oa23 a | 23 | 21 | 2 | 0,2275 | 9/100 | 12,12 | 24,92 | 0,20 | 22,29 | |
| 6 | 1 | Ac1 Oa23 b | 23 | 22 | 1 | 0,2022 | 9/100 | 14,88 | 26,71 | 0,13 | 30,42 | |
| 7 | 1 | Ac1 Oa24 e | 24 | 22 | 1 | 0,334 | 9/100 | 18,03 | 26,38 | 0,10 | 32,04 | |
| 8 | 1 | Ac1 Oa24 f | 24 | 24 | 1 | 0,2906 | 9/100 | | | 0,52 | 30,08 | |
| | | | 21,75 | 21,25 | | 0,24 | | 15,81 | 18,86 | 0,21 | 29,13 | Media |
| | | | 2,49 | 2,38 | | 0,08 | | 5,54 | 7,52 | 0,14 | 4,17 | DE |
| | | | 0,88 | 0,84 | | 0,03 | | 2,26 | 2,85 | 0,05 | 1,48 | EE |
| 9 | 2 | Ac2 Oa10 a | 10 | 11 | 1 | 0,0207 | 9/100 | 6,44 | 8,28 | 1,70 | | |
| 10 | 2 | Ac2 Oa11 a | 11 | 12 | 0 | 0,0361 | 9/100 | 5,29 | 9,42 | 1,72 | 32,69 | |
| 11 | 2 | Ac2 Oa12 a | 12 | 12 | 2 | 0,0389 | 9/100 | 5,56 | 9,22 | 1,11 | 24,42 | |
| 12 | 2 | Ac2 Oa13 b | 13 | 13 | 1 | 0,0518 | 9/100 | 8,70 | 12,78 | 1,27 | 28,96 | |
| 13 | 2 | Ac2 Oa13 d | 13 | 13 | 2 | 0,0465 | 9/100 | 7,62 | | 1,37 | 29,46 | |
| 14 | 2 | Ac2 Oa14 b | 14 | 14 | 2 | 0,0528 | 9/100 | 6,43 | | 0,92 | 29,55 | |
| 15 | 2 | Ac2 Oa15 b | 15 | 15 | 2 | 0,0717 | 9/100 | | 12,09 | | 19,67 | |
| 16 | 2 | Ac2 Oa16 b | 16 | 17 | 2 | 0,0835 | 9/100 | 8,33 | 10,58 | 1,64 | 27,66 | |
| | | | 13,00 | 13,38 | | 0,05 | | 6,80 | 10,27 | 1,36 | 27,18 | Media |
| | | | 2,00 | 1,92 | | 0,02 | | 1,33 | 1,75 | 0,31 | 4,24 | DE |
| | | | 0,71 | 0,68 | | 0,01 | | 0,50 | 0,72 | 0,12 | 1,61 | EE |
| 17 | 3 | L2 Oa16 | 16 | 17 | 1 | 0,0996 | 9/100 | 7,21 | 18,78 | 0,19 | 28,82 | |
| 18 | 3 | L2 Oa17 a | 17 | 17 | 2 | 0,1209 | 9/100 | 5,98 | 22,50 | 0,24 | 29,78 | |
| 19 | 3 | L2 Oa17 b | 17 | 17 | 1 | 0,1181 | 9/100 | 6,70 | 20,66 | 0,16 | 36,83 | |
| 20 | 3 | L2 Oa17 c | 17 | 18 | 2 | 0,1536 | 9/100 | 5,81 | 28,19 | 0,24 | 25,33 | |
| 21 | 3 | L2 Oa18 a | 18 | 18 | 1 | 0,1544 | 9/100 | 6,43 | 30,31 | 0,33 | 28,43 | |
| 22 | 3 | L2 Oa18 b | 18 | 18 | 1 | 0,1616 | 9/100 | 7,80 | 13,45 | 0,49 | 32,80 | |
| 23 | 3 | L2 Oa18 c | 18 | 19 | 2 | 0,172 | 9/100 | 5,28 | 22,73 | 0,20 | 23,14 | |
| 24 | 3 | L2 Oa19 | 19 | 19 | 1 | 0,1495 | 9/100 | 6,76 | 18,19 | 0,20 | 27,83 | |
| 25 | 3 | L2 Oa20 a | 20 | 19 | 1 | 0,2116 | 9/100 | 4,57 | 12,95 | 0,61 | 32,14 | |
| 26 | 3 | L2 Oa20 b | 20 | 19 | 2 | 0,186 | 9/100 | 7,17 | 20,81 | 0,14 | 22,90 | |
| 27 | 3 | L2 Oa20 c | 20 | 20 | 1 | 0,1867 | 9/100 | | 12,16 | 0,32 | 34,12 | |
| 28 | 3 | L2 Oa20 d | 20 | 20 | 1 | 0,1705 | 9/100 | 6,71 | 25,45 | 0,14 | 29,56 | |
| 29 | 3 | L2 Oa22 a | 22 | 21 | 2 | 0,3271 | 9/100 | 5,17 | 30,51 | 0,16 | 20,64 | |
| 30 | 3 | L2 Oa 22 b | 22 | 22 | 1 | 0,2722 | 9/100 | 6,41 | | 0,35 | 34,57 | |
| 31 | 3 | L2 Oa 23 | 23 | 23 | 1 | 0,3226 | 9/100 | 7,91 | 22,57 | 0,20 | 28,92 | |
| 32 | 3 | L2 Oa 25 | 25 | 25 | 1 | 0,3671 | 9/100 | | 15,47 | 0,50 | 31,27 | |
| | | | 19,50 | 19,50 | | 0,20 | | 6,35 | 20,16 | 0,25 | 28,85 | Media |
| | | | 2,50 | 2,28 | | 0,08 | | 0,98 | 5,98 | 0,14 | 4,51 | DE |
| | | | 0,63 | 0,57 | | 0,02 | | 0,26 | 1,54 | 0,04 | 1,13 | EE |
| 33 | 4 | F2 Oa8 b | 8 | 10 | 2 | 0,0167 | 9/100 | 4,03 | 4,98 | 0,54 | | |
| 34 | 4 | F2 Oa11 b | 11 | 12 | 2 | 0,038 | 9/100 | 4,41 | 10,55 | 0,21 | 17,37 | |
| 35 | 4 | F2 Oa11 c | 11 | 12 | 2 | 0,0379 | 9/100 | 4,20 | | 0,33 | 26,39 | |
| 36 | 4 | F2 Oa12 a | 12 | 13 | 1 | 0,0482 | 9/100 | 6,42 | 10,90 | 0,37 | 22,82 | |

| | | | | | | | | | | | | |
|----|---|------------|-------|-------|---|--------|--------|------|-------|------|-------|-------|
| 37 | 4 | F2 Oa12 b | 12 | 13 | 2 | 0,0437 | 9/100 | 4,10 | 12,32 | | 15,79 | |
| 38 | 4 | F2 Oa14 c | 14 | 15 | 1 | 0,0663 | 9/100 | 5,77 | 9,36 | 0,23 | 22,78 | |
| 39 | 4 | F2 Oa14 a | 14 | 16 | 2 | 0,0678 | 9/100 | 5,06 | 13,40 | 0,25 | 11,50 | |
| 40 | 4 | F2 Oa15 b | 15 | 16 | 2 | 0,0864 | 9/100 | 5,25 | 12,30 | 0,25 | 16,67 | |
| 41 | 4 | F2 Oa15 c | 15 | 16 | 1 | 0,0741 | 9/100 | 7,06 | 11,14 | 0,16 | 28,21 | |
| 42 | 4 | F2 Oa16 a | 16 | 17 | 2 | 0,1131 | 9/100 | 6,70 | 11,40 | 0,33 | 15,30 | |
| 43 | 4 | F2 Oa16 b | 16 | 17 | 2 | 0,1013 | 9/100 | 7,26 | 11,81 | 0,39 | 16,58 | |
| 44 | 4 | F2 Oa 17a | 17 | 18 | 1 | 0,0944 | 9/100 | | 5,45 | 0,17 | 13,35 | |
| 45 | 4 | F2 Oa 17b | 17 | 18 | 1 | 0,1321 | 9/100 | 7,21 | 15,90 | 0,29 | 20,21 | |
| 46 | 4 | F2 Oa 17d | 17 | 18 | 2 | 0,1517 | 9/100 | 8,99 | 19,71 | 0,18 | 14,30 | |
| 47 | 4 | F2 Oa 18a | 18 | 18 | 1 | 0,1359 | 9/100 | 5,79 | | 0,95 | | |
| 48 | 4 | F2 Oa18 c | 18 | 19 | 1 | 0,1598 | 9/100 | 7,35 | | 0,30 | 22,90 | |
| | | | 14,44 | 15,50 | | 0,09 | | 5,80 | 10,82 | 0,29 | 18,25 | Media |
| | | | 2,92 | 2,71 | | 0,04 | | 1,47 | 3,84 | 0,20 | 5,06 | DE |
| | | | 0,73 | 0,68 | | 0,01 | | 0,38 | 1,07 | 0,05 | 1,35 | EE |
| 49 | 5 | GC2 Oa9 | 9 | 12 | 0 | 0,0265 | 10/100 | 0,64 | | 0,72 | 24,91 | |
| 50 | 5 | GC2 Oa11 | 11 | 13 | 0 | 0,0299 | 10/100 | | | | | |
| 51 | 5 | GC2 Oa12 | 12 | 15 | 0 | 0,0504 | 10/100 | 1,13 | 28,77 | 0,74 | | |
| 52 | 5 | GC2 Oa14 | 14 | 17 | 0 | 0,1043 | 10/100 | 0,77 | | 0,53 | 36,53 | |
| 53 | 5 | GC2 Oa15 | 15 | 17 | 0 | 0,1451 | 9/100 | 0,20 | 41,08 | 0,14 | | |
| 54 | 5 | GC2 Oa16 a | 16 | 17 | 0 | 0,1225 | 9/100 | 0,59 | 62,86 | 0,32 | 27,84 | |
| 55 | 5 | GC2 Oa16 b | 16 | 17 | 2 | 0,1025 | 9/100 | 0,91 | 73,95 | 0,38 | 34,63 | |
| 56 | 5 | GC2 Oa16 d | 16 | 17 | 2 | 0,1299 | 9/100 | 0,82 | 74,67 | 0,60 | 30,64 | |
| 57 | 5 | GC2 Oa17 b | 17 | 18 | 2 | 0,1502 | 9/100 | 0,63 | 58,99 | | 32,56 | |
| 58 | 5 | GC2 Oa18 a | 18 | 19 | 0 | 0,2142 | 9/100 | 0,67 | 56,44 | 0,50 | 29,08 | |
| 59 | 5 | GC2 Oa18 c | 18 | 19 | 2 | 0,2024 | 9/100 | 0,63 | 52,77 | 0,72 | 33,45 | |
| 60 | 5 | GC2 Oa19 d | 19 | 19 | 0 | 0,2103 | 9/100 | 0,78 | 61,34 | 0,38 | 32,57 | |
| 61 | 5 | GC2 Oa19 b | 19 | 20 | 2 | 0,2105 | 9/100 | 0,84 | 58,48 | 0,53 | 37,43 | |
| 62 | 5 | GC2 Oa19 c | 19 | 20 | 2 | 0,2199 | 9/100 | 0,72 | 57,75 | 0,44 | 31,83 | |
| 63 | 5 | GC2 Oa 20 | 20 | 20 | 1 | 0,3359 | 10/100 | | | | 0,12 | |
| 64 | 5 | GC2 Oa21 | 21 | 21 | 1 | 0,2346 | 9/100 | 0,92 | 59,46 | 0,46 | 31,76 | |
| | | | 16,25 | 17,56 | | 0,16 | | 0,69 | 55,68 | 0,42 | 31,75 | Media |
| | | | 3,38 | 2,53 | | 0,08 | | 0,21 | 12,55 | 0,20 | 3,54 | DE |
| | | | 0,84 | 0,63 | | 0,02 | | 0,06 | 3,63 | 0,05 | 1,02 | EE |
| 65 | 6 | T3 Oa11 a | 11 | 12 | 2 | 0,0271 | 9/100 | 1,38 | 21,40 | 1,75 | | |
| 66 | 6 | T3 Oa11 b | 11 | 12 | 0 | 0,0472 | 9/100 | 1,27 | 25,85 | 1,60 | 59,53 | |
| 67 | 6 | T3 Oa12 b | 12 | 13 | 2 | 0,0327 | 9/100 | 0,92 | 25,99 | 0,98 | 57,80 | |
| 68 | 6 | T3 Oa12 d | 12 | 14 | 0 | 0,0454 | 9/100 | 0,95 | 34,80 | 1,17 | 32,82 | |
| 69 | 6 | T3 Oa13 a | 13 | 15 | 2 | 0,0556 | 9/100 | 1,59 | 21,76 | 2,76 | 36,51 | |
| 70 | 6 | T3 Oa13 b | 13 | 15 | 0 | 0,0474 | 9/100 | 1,73 | 18,14 | 1,46 | 37,97 | |
| 71 | 6 | T3 Oa14 a | 14 | 14 | 2 | 0,0301 | 9/100 | 1,44 | 12,29 | 0,95 | 27,24 | |
| 72 | 6 | T3 Oa14 c | 14 | 15 | 2 | 0,0711 | 9/100 | 1,30 | 16,32 | | 33,76 | |
| 73 | 6 | T3 Oa15 a | 15 | 16 | 0 | 0,0873 | 9/100 | 1,35 | | 0,90 | 20,16 | |
| 74 | 6 | T3 Oa15 b | 15 | 17 | 1 | 0,908 | 9/100 | | | | | |
| 75 | 6 | T3 Oa16 a | 16 | 16 | 2 | 0,1025 | 9/100 | 1,37 | | | 20,49 | |
| 76 | 6 | T3 Oa16 b | 16 | 17 | 0 | 0,103 | 9/100 | 2,25 | | 0,82 | 42,62 | |
| 77 | 6 | T3 Oa16 d | 16 | 18 | 2 | 0,0875 | 9/100 | 1,69 | 25,03 | 4,10 | 17,03 | |
| 78 | 6 | T3 Oa17 | 17 | 18 | 0 | 0,0953 | 9/100 | 2,22 | 22,88 | 1,70 | 29,28 | |
| 79 | 6 | T3 Oa18 | 18 | 20 | 2 | 0,1991 | 9/100 | 1,22 | 23,51 | 0,87 | 31,34 | |
| 80 | 6 | T3 Oa21 | 21 | 20 | 2 | 0,1862 | 9/100 | 2,44 | 20,52 | 0,91 | 20,78 | |
| | | | 14,63 | 15,75 | | 0,13 | | 1,48 | 21,71 | 1,35 | 31,19 | Media |
| | | | 2,70 | 2,49 | | 0,21 | | 0,46 | 5,63 | 0,94 | 13,08 | DE |

| | | | | | | | | | | | | |
|-----|---|-----------|-------|-------|---|--------|-------|------|-------|------|-------|-------|
| | | | 0,68 | 0,62 | | 0,05 | | 0,12 | 1,63 | 0,26 | 3,50 | EE |
| 81 | 7 | G1 Oa17 a | 17 | 18 | 0 | 0,0735 | 9/100 | 1,78 | 48,16 | 0,22 | | |
| 82 | 7 | G1 Oa17 b | 17 | 18 | 2 | 0,1824 | 9/100 | 1,72 | 34,92 | 0,24 | 16,06 | |
| 83 | 7 | G1 Oa17 c | 17 | 19 | 2 | 0,0841 | 9/100 | 0,88 | 35,08 | 0,33 | 24,14 | |
| 84 | 7 | G1 Oa18 | 18 | 19 | 2 | 0,1226 | 9/100 | 1,61 | 30,67 | 0,35 | 10,93 | |
| 85 | 7 | G1 Oa19 a | 19 | 20 | 0 | 0,138 | 9/100 | 1,77 | 26,09 | 0,26 | 14,20 | |
| 86 | 7 | G1 Oa19 b | 19 | 20 | 2 | 0,1763 | 9/100 | 1,22 | 34,94 | 0,38 | 16,39 | |
| 87 | 7 | G1 Oa19 c | 19 | 21 | 0 | 0,0808 | 9/100 | 1,92 | 38,00 | | 22,52 | |
| 88 | 7 | G1 Oa20 | 20 | 20 | 0 | 0,1782 | 9/100 | 1,78 | 39,62 | 0,29 | 16,33 | |
| 89 | 7 | G1 Oa21 a | 21 | 21 | 0 | 0,246 | 9/100 | 1,94 | 34,11 | 0,28 | 14,23 | |
| 90 | 7 | G1 Oa21 b | 21 | 21 | 2 | 0,257 | 9/100 | 1,97 | 33,11 | 0,19 | 16,11 | |
| 91 | 7 | G1 Oa22 a | 22 | 22 | 0 | 0,246 | 9/100 | | 43,21 | 0,23 | 17,40 | |
| 92 | 7 | G1 Oa22 b | 22 | 22 | 2 | 0,2014 | 9/100 | | | 0,55 | 14,55 | |
| 93 | 7 | G1 Oa22 c | 22 | 23 | 2 | 0,145 | 9/100 | 0,55 | | 0,28 | 10,55 | |
| 94 | 7 | G1 Oa22 d | 22 | 23 | 2 | 0,2872 | 9/100 | 1,70 | 38,68 | 0,22 | 15,91 | |
| 95 | 7 | G1 Oa27 | 27 | 25 | 2 | 0,3934 | 9/100 | 0,13 | 45,73 | 0,26 | 16,83 | |
| | | | 20,20 | 20,80 | | 0,19 | | 1,23 | 36,64 | 0,28 | 15,78 | Media |
| | | | 2,68 | 1,97 | | 0,09 | | 0,59 | 6,09 | 0,09 | 3,67 | DE |
| | | | 0,69 | 0,51 | | 0,02 | | 0,16 | 1,69 | 0,02 | 0,98 | EE |
| 96 | 8 | P3 Oa12 | 12 | 14 | 0 | 0,0402 | 9/100 | 4,81 | | 0,54 | 14,68 | |
| 97 | 8 | P3 Oa16 | 16 | 16 | 0 | 0,1015 | 9/100 | 3,94 | 13,00 | 1,13 | 25,32 | |
| 98 | 8 | P3 Oa16b | 16 | 17 | 1 | 0,1047 | 9/100 | 9,24 | 38,01 | 1,15 | | |
| 99 | 8 | P3 Oa17 a | 17 | 18 | 1 | 0,1098 | 9/100 | | 29,87 | 1,31 | 40,35 | |
| 100 | 8 | P3 Oa17 b | 17 | 18 | 1 | 0,1119 | 9/100 | 4,26 | 22,16 | 0,50 | 47,81 | |
| 101 | 8 | P3 Oa17 c | 17 | 19 | 2 | 0,1684 | 9/100 | 3,70 | 14,01 | 0,48 | 22,33 | |
| 102 | 8 | P3 Oa19 a | 19 | 20 | 1 | 0,1701 | 9/100 | 4,14 | 25,22 | 0,84 | 28,57 | |
| 103 | 8 | P3 Oa20 a | 20 | 21 | 1 | 0,1951 | 9/100 | | | 0,27 | 10,71 | |
| | | | 16,75 | 17,88 | | 0,13 | | 4,74 | 22,07 | 0,69 | 24,23 | Media |
| | | | 2,38 | 2,23 | | 0,05 | | 2,10 | 9,55 | 0,38 | 13,26 | DE |
| | | | 0,59 | 0,56 | | 0,01 | | 0,86 | 3,90 | 0,14 | 5,02 | EE |
| 104 | 9 | H4 Oa14 a | 14 | 15 | 2 | 0,0666 | 9/100 | 0,62 | 43,54 | 1,78 | 36,19 | |
| 105 | 9 | H4 Oa14 c | 14 | 15 | 2 | 0,0817 | 9/100 | 1,17 | 30,48 | 1,46 | 27,66 | |
| 106 | 9 | H4 Oa15 a | 15 | 16 | 2 | 0,1333 | 9/100 | 0,82 | | 0,66 | 32,86 | |
| 107 | 9 | H4 Oa15 b | 15 | 16 | 1 | 0,1163 | 9/100 | 1,62 | 20,89 | 1,40 | 35,00 | |
| 108 | 9 | H4 Oa15 d | 15 | 16 | 1 | 0,083 | 9/100 | 1,47 | 37,23 | 0,81 | 32,05 | |
| 109 | 9 | H4 Oa16 b | 16 | 17 | 1 | 0,1259 | 9/100 | 1,15 | | 0,77 | 29,94 | |
| 110 | 9 | H4 Oa17 a | 17 | 16 | 1 | 0,1424 | 9/100 | 1,78 | 23,67 | 0,94 | 32,65 | |
| 111 | 9 | H4 Oa17 b | 17 | 17 | 2 | 0,1175 | 9/100 | 0,66 | 26,38 | 1,29 | 31,49 | |
| 112 | 9 | H4 Oa18 | 18 | 19 | 2 | 0,2031 | 9/100 | 1,01 | 31,56 | 1,24 | 31,76 | |
| | | | 15,67 | 16,33 | | 0,12 | | 1,08 | 29,69 | 1,09 | 32,09 | Media |
| | | | 1,41 | 1,22 | | 0,04 | | 0,41 | 7,88 | 0,38 | 2,52 | DE |
| | | | 0,47 | 0,41 | | 0,01 | | 0,14 | 2,98 | 0,13 | 0,84 | EE |

Media = Mean; DE (Desviación estándar) = Standard deviation; EE (Error estándar) = Standard error

Anexo

C

Chapter 4

1. INTRODUCTION

Organotin compounds are man-made organometallic chemicals which have diverse industrial applications (Hoch, 2001; Omae, 2006). Particularly, tributyltin or TBT has been used as an effective biocide during decades, mainly in marine antifouling paints to control the development of organisms on ship hulls (Readman, 2006; Fig 1). The use of this type of paints produces varied benefits on maritime shipping, like ease on navigation, fuel saving, low maintenance and repair operations, etc. (Champ, 2000; Fig 1). Although leaching rate of organotin compounds from ship hulls is very small, their concentration can gradually increase in marinas and ports, where a high amount of ships is always present (Bech, 2002; Gómez-Ariza *et al.*, 2006; Omae, 2006). The organotin degradation mainly occurs by microorganisms (bacteria, algae and fungi), photolysis (UV light) and hydrolysis (Richard & Lillebo, 1988; Omae, 2006). This process occurs relatively fast in the sea, where organotin compounds show half-lives of several days or months, whereas they can approximately remain from 1 to 15 years in sediments (Omae, 2006). Exactly, TBT may be quickly retired from water column due to its low solubility and its relatively high affinity by particulate matter, supplying a direct and potentially persistent route of entrance in sediments (Richard & Lillebo, 1998; Langston & Pope, 1995; Hoch, 2001).

TBT has been recognized as a toxic chemical for many non-target marine organisms, especially for gastropod molluscs (Alzieu, 2000a). Among its negative effects emphasizes, due to the low levels that provoke it and its great profusion, its activity as hormonal disruptor (Oehlmann & Schulte-Oehlmann, 2003), which provokes the superimposition of male characters (imposex), such as the penis and the vas deferens, in females (Bryan *et al.*, 1987; Gibbs *et al.*, 1987; 1988). The first record

of masculinization of a female was made by Blaber about 1970; nevertheless, this fact was similarly observed on different species of gastropod molluscs (seen in Bryan *et al.*, 1993). Thus, the term “imposex” was coined by Smith in 1971 (seen in Gibbs & Bryan, 1994), although it was not showed until some years later that this phenomenon was not a consequence of parasitism, but this was induced by the exposing to organotin compounds (Smith, 1980, 1981). Later, many studies have shown that incidence and intensity of imposex change inversely with distance from the origin of such compounds, as for example, from ports (e.g. Spence *et al.*, 1990; Evans *et al.*, 1995, 1996; Rilov *et al.*, 2000; Bech, 2002; Fernández *et al.*, 2002; Santos *et al.*, 2004). In fact, the high specificity of imposex has turned it in a useful tool to assess contamination by organotin compounds. Thus, imposex has been detected in more than 150 species of gastropod molluscs around the world (Oehlmann & Schulte-Oehlmann 2003). The effects of organotin compounds on human are not well-known, although these may produce some cutaneous or respiratory problems (Matsui *et al.*, 1999; Hoch, 2001; Antizar-Ladislao, 2008).



Figure 1. Fouling growth, that is, undesirable biological material like algae and barnacles reduces navigability of ships (left picture). The use of antifouling paints, instead, prolongs conservation and facilitates movement of ships (right picture).

Since harmful effects of antifouling paints containing TBT on aquatic ecosystem were discovered, different limitations have been established in several countries. Thus, as a result of the sharp decline in the industrial production of the oyster *Crassostrea gigas*, first limitations were established in France in 1982, where the use of these paints were banned in boats smaller than 25 m (Alzieu *et al.*, 1989; Ruiz *et al.*, 1996; Alzieu, 2000b). Later, similar regulations were implanted in other European countries (e.g. United Kingdom or Norway), United States, Canada, Australia and New Zealand (Evans *et al.*, 1995). A common legislation for the whole EU was agreed few years ago (Regulation-CE n° 782 / 2003). Moreover, the International Maritime Organization (IMO) prohibited the use of harmful organotin compounds in antifouling paints used on ships in 2001, establishing that, no ship should contain such compounds on their hull from January 2008 (IMO, 2001). Due to the incorporation of these limits, the levels of organotin compounds and imposex have dropped in many localities (e.g. Evans *et al.* 1994, 1995; Smith, 1996; Rees *et al.*, 2001); however, port areas, especially those having shipyards, or locations submitted to an intensive shipping traffic, continue keeping as hotspots of imposex (e.g. Minchin *et al.*, 1995; Morgan *et al.*, 1998; Evans & Nicholson, 2000; Shim *et al.*, 2000; Rees *et al.*, 2001; Bech, 2002; Gibson & Wilson, 2003). This problem could aggravate if sediments, the main reservoir of organotin compounds, are mobilized by events like storms or dredge operations (de Mora *et al.*, 1995; Macías-Carranza *et al.*, 1997; Evans & Nicholson, 2000; Santos *et al.*, 2004). On the other hand, it has been estimated that 70 % of the world fleet still use paints based in TBT (Champ, 2000; Hoch, 2001). In fact, several studies have registered imposex in new places, especially in the Asiatic area where many countries still lack regulations about the use of these paints (Tan, 1999; Shim *et al.*, 2000; Bech, 2002).

In the last decades, canary population and economy have suffered, at the same time, a spectacular growth. The inhabitants have increased up to 33 % in the last 20 years, whereas the development of the economy has been principally caused by the tourist sector (ISTAC, www.gobiernodecanarias.org/istac/estadisticas.html). Thus, commercial, industrial and leisure activities have notably enlarged in coastal zones that have supposed the construction of multitude new infrastructures like ports and marinas. In this sense, the total shipping traffic (e.g. passengers, goods, etc.) has also increased the last decades (ISTAC; www.puertosdetenerife.org; www.palmasport.es). In fact, big ships (e.g. tankers, cargo ships, etc.) coming from Europe, Africa and America used to stop over in the canary ports, which are also used as logistic base by Asian fishing ships. Despite this great maritime activity, there is no study about imposex in the Canarian Archipelago (although Spence *et al.*, 1990 analysed a site in Lanzarote). In this sense, *Stramonita haemastoma* Linnaeus, 1766 – a gastropod mollusc widely distributed in the Atlantic and Mediterranean rocky shores – and other closed species (e.g. *Thais* spp.) have been commonly used as indicator of pollution by TBT in several regions of the world (e.g. Spence *et al.*, 1990; Horiguchi *et al.*, 1994; Tan, 1999; Rilov *et al.*, 2000; Shim *et al.*, 2000; Rees *et al.*, 2001; Fernández *et al.*, 2002, 2005; Gibson & Wilson, 2003; Stickle & Zhang, 2003; Limaverde *et al.*, 2007). Therefore, the main objectives of this study were: (1) to detect the presence of imposex on *S. haemastoma* in the Canarian Archipelago, determining its extension and severity in relation to entrance sources of harmful antifouling paints and (2) to measure the concentrations of organotin compounds on such gastropod mollusc, thus establishing a base line of data.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 Study area and sampling design

The surveys were carried out in Tenerife, Gran Canaria and Lanzarote islands located in the Canarian Archipelago (eastern Atlantic), between November 2006 and February 2007 (Fig. 2; Table 1). A total of 13 localities of rocky substrate were selected, at least 4 per island, where the whelks *Stramonita haemastoma* were available. These places were chosen considering the distance from port entrance (measure in km) and the port size (small, medium or big) as follows: (a) locality in a port of big or medium size, (b) locality close to a port of big or medium size and (c) locality far from any port (Table 1). The sampling localities situated inside the ports were at variable distances of the entrances (depending on each port); whereas, those situated outside were near or far at distances ranging from 0 to 3 Km or > 3 Km, respectively. On the other hand, the size of the ports was based on the length of the line dock according to these ranks: 100-1000 m and > 1000 m for the medium and big ports, respectively; the small ports (< 100 m) were not considered in this study. The size of the ports significantly influenced in the type and volume of their activities (Table 1). This design permitted to establish a spatial variation in the effect of organotin compounds on the organisms along the coast; from ports, which are considered the most important focus of entrance of such compounds, to supposedly clean far places. In this sense, to know which could be the real extension of imposex in the canary coast, a list was elaborated showing all ports and their localizations were indicated on a map (Fig. 2). Although ports are administratively classified in Spain (e.g. ports of regional or state entitlement), these were classified here according to their activities – which were reflected in accordance with the type of observed ships in the ports – in three categories: (1) cargo and passengers ships, (2) fishing boats and (3) pleasure boats (Fig. 2).

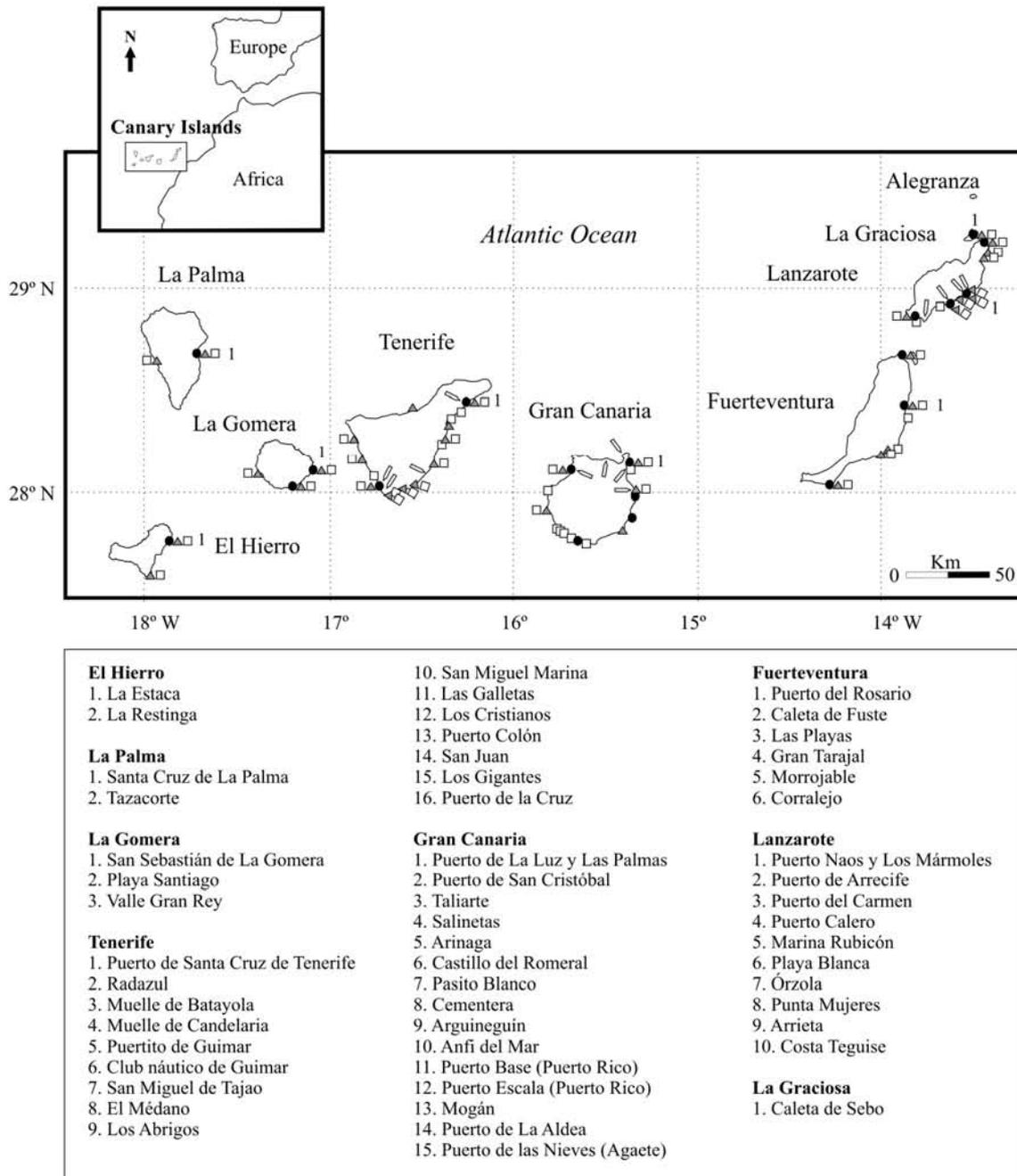


Figure 2. Map showing all the canary ports according to their activities (● Goods and/or passengers, ▲ Fishing, □ Pleasure). Number 1 indicates the most important port on each island, the rest, clockwise, are noted below the map. The approximate localization of the sampling locations is indicated with lines ().

Table 1. Characteristics of the sampling localities.

| Island | Locality | UTM Coordinates | | Information about localities | Type of habitat |
|---|---|-----------------|--------------|--|-----------------|
| | | X | Y | | |
| Tenerife | | | | | |
| | ^a Puerto de Santa Cruz de Tenerife | 378.876,56 | 3.151.552,82 | Commercial (including goods and passengers), fishing and leisure port with shipyards. There is a near oil refinery. Ships > 25 m are abundant. | RO / I |
| | ^a Puerto de Los Cristianos | 331.660,38 | 3.103.655,59 | Commercial (including a passenger ship > 25 m), fishing and leisure port with maintenance facilities. Ships are mainly < 25 m. | R / S |
| | ^b El Palm-mar | 332.342,13 | 3.101.203,60 | Rocky shore near the Port of Los Cristianos. There are near marine cages. | PR / I |
| | ^c Granadilla | 353.401,06 | 3.107.049,71 | Remote rocky shore. Nowadays a port is constructed for the adjacent industrial area. | PR / I |
| Gran Canaria | | | | | |
| | ^a Puerto de Las Nieves (Agaete) | 430.291,86 | 3.108.275,45 | Commercial (including a passenger ship > 25 m), fishing and leisure port with maintenance facilities. Ships are mainly < 25 m. | PR / I |
| | ^b Taliarte | 463.898,05 | 3.096.368,95 | Rocky shore near the Port of Taliarte, which is fishing, commercial and leisure port with maintenance facilities. Ships are mainly < 25 m. | PR / I |
| | ^b El Castillo | 459.230,77 | 3.106.406,08 | Rocky shore near the Port of la Luz & Las Palmas, which is the biggest commercial (including goods and passengers), fishing and leisure port in the Canary Islands with shipyards. It also includes a naval base. Ships > 25 m are abundant. | PR / I |
| | ^c El Confital | 457.253,21 | 3.116.183,59 | Remote rocky shore. | PR / I |
| | ^c Bañaderos | 447.824,28 | 3.114.343,67 | Remote rocky shore. There is a near desalination plant. | PR / I |
| Lanzarote | | | | | |
| | ^a Puerto Naos and Los Marmoles | 642.888,50 | 3.205.617,83 | Commercial (including goods and passengers), fishing and leisure port with shipyard. Ships > 25 m are abundant. | PR / I |
| | ^a Puerto del Carmen | 629.157,03 | 3.200.007,25 | Commercial (including a passenger ship ≈ 25 m), fishing, leisure port with maintenance facilities. Ships are mainly < 25 m. | RP / I |
| | ^b Las Caletas | 644.467,73 | 3.206.310,87 | Rocky shore near the Port of Naos-Los Mármoles. There is a desalination plant. | PR / I |
| | ^c Papagayo | 617.836,95 | 3.192.082,85 | Remote rocky-sandy shore. Leisure ships (< 25 m) are frequent in the area. | PR / I |
| ^{a, b & c} classification of the sampling localities according to the distance of the entrance port (see explanations in the text). Type of habitat in which the samples of <i>Stramonita haemastoma</i> were recollected: R: rocky; RO: breakwater; PR: rocky platform; I: Intertidal; S: Subtidal. | | | | | |

2.2 Measurement of imposex

At each locality from 10 to 33 specimens of *Stramonita haemastoma* were collected depending on population size (Table 2). These were collected by hand walking along the intertidal zone during the low tide or in the subtidal zone (0.5-1.5 m) using snorkel. The samples were transported to the laboratory and kept frozen until the analysis. It is known that frozen slightly increases the penis size both in males and females of *Nucella lapillus* but it does not affect to the index of the relative penis size (RPSI) (Minchin & Davies, 1999); instead, some preliminaries observations about *Thais orbita* show that the frozen does not affect to the size of penis (seen in Gibson & Wilson, 2003). The size of each specimen (i.e. shell height) was measured to the nearest 0.1 mm using Vernier callipers. The shells were cracked in order to remove the soft tissues, the mantle was cut and folded back and then, organisms were sexed based on: (1) the presence or absence of dark sperm ingesting gland, which is a female organ, (2) the presence or absence of albumen gland, which is another female organ situated immediately posterior part of the capsule gland, (3) the presence of capsule gland in females or prostate gland in males; (4) the penis length that is normally longer in males than females (Gibbs *et al.*, 1987; Gibbs & Bryan, 1994; Spence *et al.*, 1990). Penis length in males and in imposexed females (precision of 0.1 mm) was measured under a binocular microscope using an ocular micrometer grid (Fig 3). The degree of imposex in females was expressed in different ways: (1) frequency of imposexed females, (2) index of the relative penis size (RPSI) and (3) index of the relative penis length (RPLI) (Bryan *et al.*, 1986; Gibbs *et al.*, 1987; Gibbs & Bryan, 1994). The indices are defined as follows:

$$\text{RPSI} = \frac{(\text{mean penis length in females})^3}{(\text{mean penis length in males})^3} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{RPLI} = \frac{\text{mean penis length in females}}{\text{mean penis length in males}} \times 100 \quad (2)$$

The frequency of imposexed females is a good indicator of imposex response at low environmental expositions, the second (RPSI) and the third (RPLI) indices are more adequate for high and medium levels, respectively (Fernández *et al.*, 2002). Although the vas deferens sequence index (VDSI) could not be directly calculated since the samples were frozen – it was only observed in some samples – it was alternative calculated using the RPSI values, that permitted to provide a reliable estimation of VDSI values (Minchin *et al.* 1995; Lemghich & Benajiba, 2007). The used formula was the following:

$$\text{VDSI} = \frac{(4.77 \times \text{RPSI})}{(1.22 + \text{RPSI})} \quad (3)$$

The VDSI is useful for demonstrating the presence of low to moderate levels of TBT (Minchin *et al.*, 1995). Lastly, sex ratio (male / female) was also calculated for each locality.



Figure 3. To study the samples of *Stramonita haemastoma* a binocular microscope was used (left picture). Detail of a penis (marked with a dotted line) on a specimen (right picture).

2.3 Analysis of organotin compounds

The determination of tin as TBT and DBT (Dibutyltin) in tissues was based on the methods employed, and developed from previous other, by Bryan *et al.* (1986). In this study the following steps were followed: (1) the tissues of 4-6 specimens were pooled and homogenized by distilled water (there is some exception, see below); (2) three aliquots of 0.5 g were placed in stoppered boiling tubes and a standard of TBT (0.2 μg) was added to one sample and a standard of DBT to another; (3) after shaking briefly, they were left for 1 to 1.5 hr and then 5 ml of HCL were added to each tube; (4) 30 min later, 5 ml of hexane were added to the tubes those were placed on an automatic shaker for 15 min; (6) after the addition of 5 ml of distilled water, the tubes were recentrifuged for 3 min at 20000 rpm; (7) to separate the DBT from the TBT fraction, the clear hexane extract was removed with a solution of NaOH (1N) at a 1:1 ratio (Fig. 4). The same procedure was applied to the reagent blanks.

The concentration of organotins was measured by atomic absorption spectrophotometer (2280 Perkin Elmer – HGA 76B; Fig. 4). A treatment with tantalum pentoxide was used to improve and extend the life of the pyrolysed furnace (Brooks *et al.*, 1981). An electrodeless discharge tin lamp was employed at a wavelength of 286 nm. To determine tin in 50 μl aliquots of the hexane extracts the following conditions were used: (1) dry at 150 °C during 20 s; (2) ash at 1000° C during 25 s; (3) atomize at 2500° C during 5 s with closed gas. A detection limit ranged from 2 to 5 ng Sn g^{-1} dry weight was obtained. The analytical procedure was validated by analyzing reference materials (PACS 1, sediment). The registered values for TBT (1.05 ± 0.13 ng Sn g^{-1} dry weight) and DBT (0.89 ± 0.25 ng Sn g^{-1} dry weight) were in accordance with certified values for TBT (1.27 ± 0.22 ng Sn g^{-1} dry weight) and DBT (1.16 ± 0.18 ng Sn g^{-1} dry weight), respectively. In addition, the laboratory (Tracer Laboratory, MBA) has participated in intercalibration exercises which do not reveal significant differences with the accepted values.

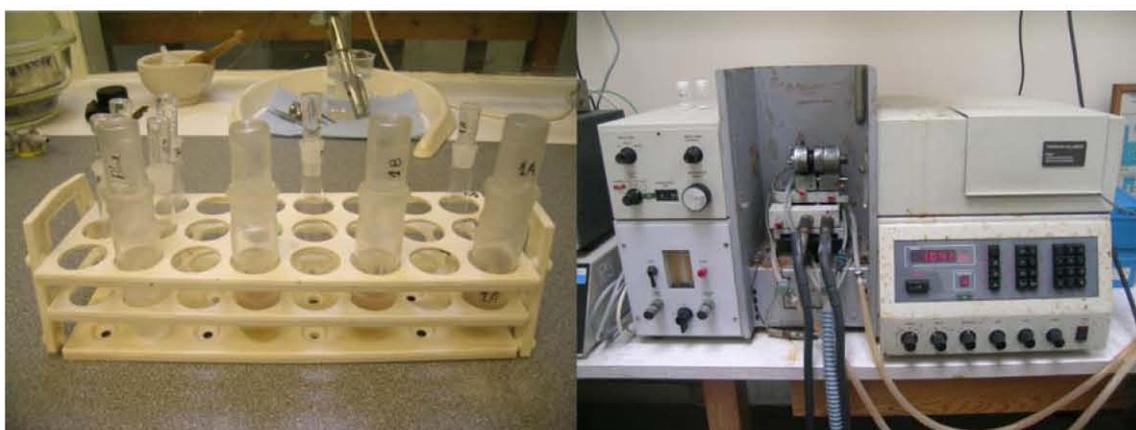


Figure 4. One of the phases to extract organotin compounds (left picture). Atomic absorption spectrophotometer used to measure the levels of such compounds (right picture).

2.4 Statistical analysis

The registered data about the size and penis length for male and female specimens were compared by confidence intervals (IC 95%). Besides, the relation between both parameters was studied by means of analysis of lineal regression; data were log transformed when necessary to achieve normality (Martínez-González *et al.*, 2001). On the other hand, all the registered values of TBT, DBT and total organotin compounds (TOT) concentrations were, in each case, pooled in three groups according to they come from localities situated inside, near or far from ports. Thus, the presence of significant differences among these three groups was checked by means of non-parametric statistic (Kruskal-Wallis test). Afterwards, Mann-Whitney (Wilcoxon) test was achieved to determine which groups were significantly different. The level of significance was situated in $p < 0.05$. This last technique was equally used to verify if significant differences existed in the levels of organotin compounds between male and female specimens. The statistical analyses were performed using STATGRAPHICS Plus 5.0 and the spreadsheet EXCEL (Microsoft Windows XP).

3. RESULTS

3.1 Size and length of the penis

In the table 2 the registered measures of size and penis length for male and imposexed female specimens are shown at the analysed localities. Considering the data overall set, male (IC 95% = 28.1-30.4) and female specimens (IC 95% = 28.8-34.1) showed similar sizes. Their penis, instead, were longer in males (IC 95% = 5.0-5.7) than in females (IC 95% = 1.4-2.3). Both sexes also showed similar sizes (IC 95 %) for each locality (Table 2).

Table 2. Measures of size and penis length in *Stramonita haemastoma*.

| Island | Locality | n | Males | | Females | |
|--------------|----------------------------------|----|-------------|--------------|-------------|--------------|
| | | | Size | Penis length | Size | Penis length |
| Tenerife | | | | | | |
| | Puerto de Santa Cruz de Tenerife | 20 | 19.8 ± 7.3 | 2.8 ± 1.8 | 21.9 ± 10.2 | 1.8 ± 1.2 |
| | Puerto de Los Cristianos | 14 | 23.3 ± 3.0 | 4.8 ± 1.9 | 25.2 ± 3.8 | 1.3 ± 0.6 |
| | El Palm-mar | 25 | 28.2 ± 1.9 | 4.3 ± 1.3 | 31.0 ± 3.5 | - |
| | Granadilla | 24 | 24.8 ± 2.8 | 4.8 ± 1.5 | 23.6 ± 1.7 | - |
| Gran Canaria | | | | | | |
| | Puerto de Las Nieves (Agaete) | 27 | 28.2 ± 3.0 | 5.8 ± 1.4 | 29.4 ± 5.1 | 1.7 ± 0.5 |
| | Taliarte | 17 | 38.6 ± 3.4 | 3.6 ± 2.0 | 34.7 ± 7.8 | 2.8 ± 2.3 |
| | El Castillo | 19 | 35.5 ± 9.32 | 7 ± 2.4 | 35.3 ± 8.3 | 2.1 ± 0.7 |
| | El Confital | 23 | 26.0 ± 4.0 | 5.2 ± 0.9 | 23.4 ± 1.1 | - |
| | Bañaderos | 26 | 26.0 ± 1.7 | 4.8 ± 1.8 | 26.1 ± 2.25 | - |
| Lanzarote | | | | | | |
| | Puerto Naos and Los Mármoles | 10 | 49.8 ± 3.8 | 8.1 ± 2.9 | 50.4 ± 7.7 | 6.8 ± 2.1 |
| | Puerto del Carmen | 13 | 26.5 ± 3.5 | 4.9 ± 2.7 | 26.9 ± 3.5 | 1.1 ± 0.4 |
| | Las Caletas | 33 | 38.2 ± 4.2 | 7.4 ± 1.9 | 40.8 ± 4.3 | 0.5 ± 0.14 |
| | Papagayo | 26 | 29.9 ± 3.7 | 6.0 ± 0.7 | 30.6 ± 6.1 | - |

Size = shell height; Mean values (mm ± SE).

On the other hand, the relation between specimen size and penis length was positive and intensive ($r = 0.7$) for males; a significant regression was found ($F = 159$, $p < 0.001$, $r^2 = 0.5$), which establishes that 50 % of the total penis length variability was explained by the specimen size. The lineal model that described this relation was as follows: $Penis\ length = -0.11 + 0.18 * shell\ height$. For females, the relation between the mentioned parameters was also positive but with moderate intensity; the regression was equally significant ($F = 10.8$, $p < 0.01$, $r^2 = 0.17$) although it established that only 17 % of the total penis length variability was explained by specimen size. In this case, the lineal model that explained this relation was as follows: $Log (penis\ length) = -0.61 + 0.03 * Shell\ height$.

3.2 Imposex

Imposex was evident in *Stramonita haemastoma* although there were considerable differences in its frequency among the analysed localities (Fig 5). Despite this variability, the expression of imposex was intimately related to port areas. Thus, the frequency of imposexed females reached 100 % in 4 of the 5 localities situated inside ports (Fig 5). Imposex attained 93.3 % in Puerto de Las Nieves (Agaete, GC). On the other hand, the incidence of imposex descends in the localities near ports, where it varied from 42.8 % to 88.8 %; except in El Palm-mar (T) where it was not detected. Lastly, the collected specimens of *S. haemastoma* far from ports did not show imposex (Fig. 5).

RPSI and RPLI values showed a great variability, oscillating from 0.02 to 60.4 and from 6.1 to 84.4, respectively (Fig 5). However, both indexes presented a similar pattern which was a downward tendency – less evident for RPSI – from localities situated in ports to those situated far from them in T and L (Fig. 5). In GC, the observed pattern was comparable to the previous one but the highest values were registered in Taliarte (locality situated next to a medium port) (Fig. 5); RPSI and RPLI were also detected in El Castillo (locality situated near a big port). Inferred results of VDSI showed values oscillating from 0.1 to 4.7. As additional information, it is important to point out the results of VDSI directly observed those were: 3 specimens (stage 4) (El Castillo, GC); 1 (4) and 1 (6) (Agaete, GC); 2 (4), 1 (3) and 2 (2) (Taliarte, GC); 2 (4 or more developed) (Puerto Naos and Los Mármoles, L); 2 (3) (Puerto del Carmen, L).

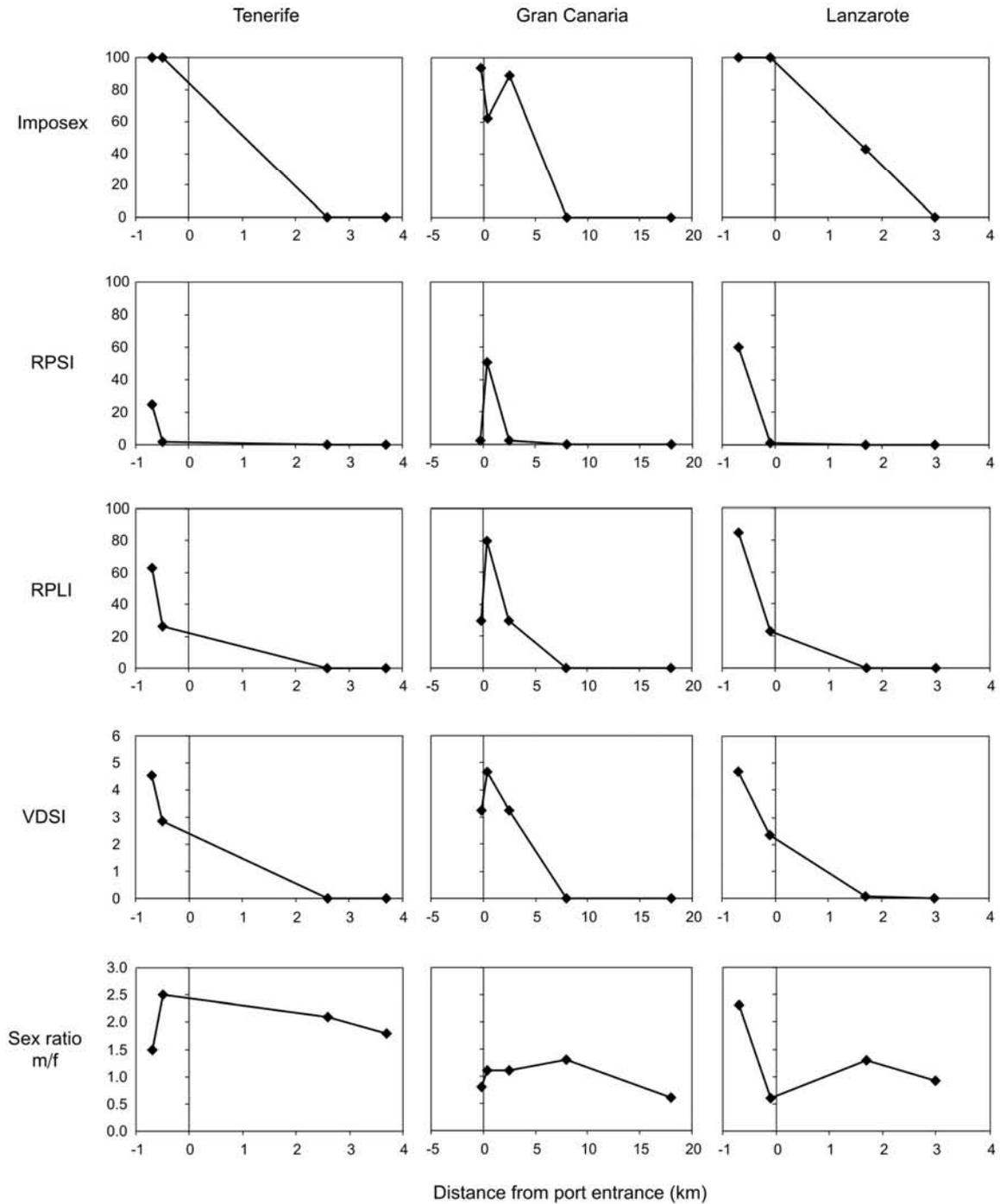


Figure 5. Indexes of imposex, RPSI, RPLI, VDSI and sex rate (m: male; f: female).

Sex ratio varied both from a locality to another and among islands (Fig. 5). It was always higher than 1.5 in T, reaching a maximum value of 2.5; the registered values were about 1 in GC; whereas, observed values were more variable in L, oscillating from 0.6 to 2.3 (Fig. 5).

3.3 Concentration of organotin compounds

In general, TBT levels, its degraded form DBT and TOT showed a descending tendency from ports to remote localities in T and L; such pattern was not observed in GC (Fig 6). The highest concentrations were found in Puerto de Santa Cruz de Tenerife (T, Fig. 6). TBT levels constituted 86.6 ± 13.1 % (49.3-95.3 %, n = 13) and 88.7 ± 5.9 % (79.5-93.6 %, n = 13) of the overall organotin compounds in males and females, respectively (Fig. 6).

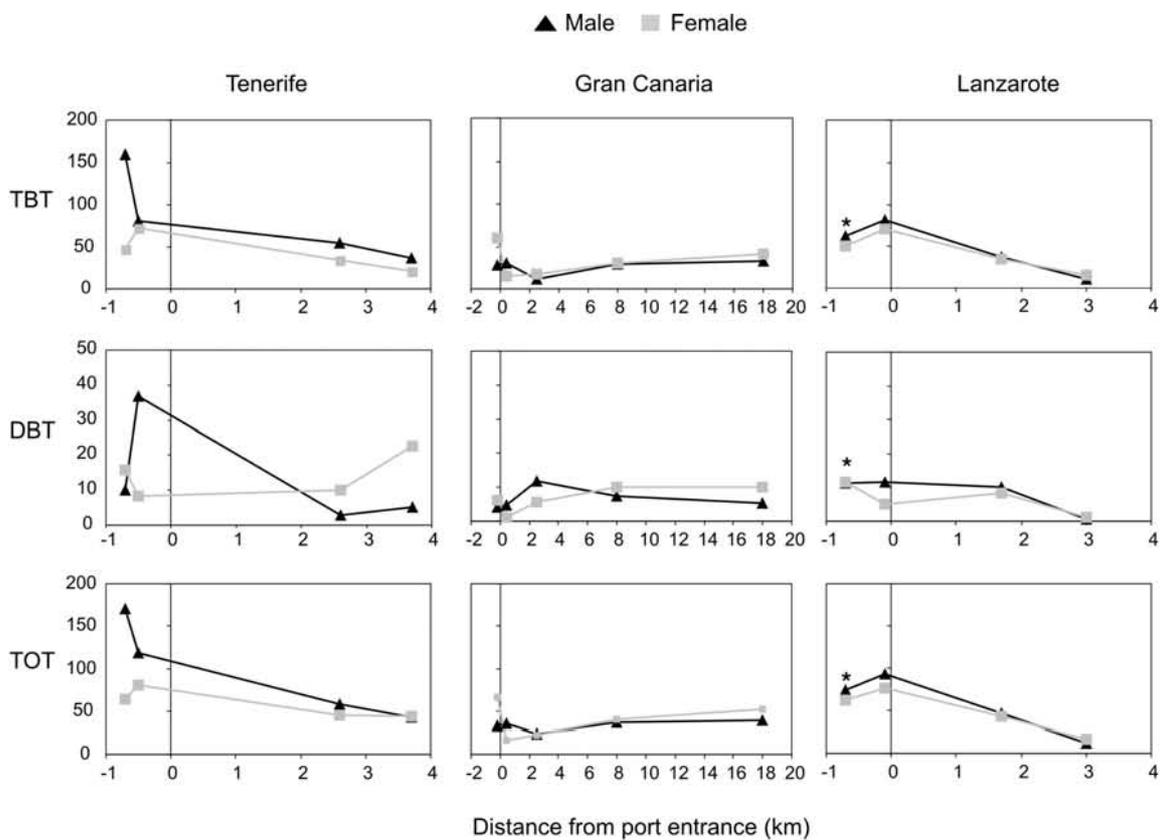


Figure 6. Mean concentration (ng Sn g⁻¹ dry weight) of TBT, DBT and TOT for male and female specimens of *Stramonita haemastoma* in the different analysed localities per island. Marked values with an asterisk (*) come from individually analysed specimens.

TBT, DBT and TOT concentrations recorded inside, near or far from ports were, in each case, significantly different ($H = 29.41$, $p < 0.001$; $H = 11.84$, $p < 0.01$; $H =$

32.28, $p < 0.001$; Kruskal-Wallis test, respectively). Exactly, concentrations of these compounds were higher in the localities situated in ports than those located near or far of them, which were similar (Table 3).

Table 3. Mann-Whitney (Wilcoxon) test results for the comparison among levels of organotin compounds in localities inside, near or far from ports.

| Comparison group | TBT | DBT | TOT |
|------------------|----------|----------|----------|
| Inside-Near | 53** | 140* | 42** |
| Inside- Far | 35** | 109* | 28** |
| Near-Far | 161 (ns) | 134 (ns) | 157 (ns) |

Values of the statistical test (W); ** = $p < 0.001$; * = $p \leq 0.01$; ns: not significant

TBT ($W = 397$, $p = 0.26$), DBT ($W = 484$, $p = 0.91$) and TOT ($W = 411$, $p = 0.36$) concentrations were similar between male and female specimens for the overall study (Mann-Whitney “Wilcoxon” test), although some differences were observed in determined localities from T (Fig. 6). In the same way, significant differences were not detected among both sexes for the registered specimens in localities situated inside, near or far from ports (Table 4).

Table 4. Mann-Whitney (Wilcoxon) test results for the comparison among levels of organotin compounds in male and female specimens in localities inside, near or far from ports.

| Group | TBT | DBT | TOT |
|--------------|---------|-----------|---------|
| Inside (♂-♀) | 62 (ns) | 71 (ns) | 58 (ns) |
| Near (♂-♀) | 34 (ns) | 39 (ns) | 27 (ns) |
| Far (♂-♀) | 33 (ns) | 56.5 (ns) | 44 (ns) |

Values of the statistical test (W); ns: not significant

4. DISCUSSION

This study presents the first evidence of imposex and contamination by organotin compounds in the Canarian Archipelago. The results clearly show that *Stramonita haemastoma* is affected by imposex and generally contains higher levels of organotin compounds in ports or in those closed localities to them. This finding has been a common tendency for *S. haemastoma* and for other gastropod molluscs (e.g. *Thais* spp.) in several regions of the world (e.g. Spence *et al.*, 1990; Minchin *et al.*, 1995; Rilov *et al.*, 2000; Shim *et al.*, 2000; Rees *et al.*, 2001; Fernández *et al.*, 2002; Gibson & Wilson, 2003; Lemghich & Benajiba, 2007). On the one hand, this result confirms that locations with a high level of shipping activities as ports and marinas, especially those having shipyards, persist as the main sources of contamination of organotin compounds. Particularly, anti-fouling paints applied to ship hulls are still the main source of TBT, although sediments play a key role as reservoir, since its mobilization may even release historic contamination (Evans & Nicholson, 2000). On the other hand, the observed tendency suggests that imposex is a localized problem and restrictions about the use of harmful anti-fouling paints have been effective (e.g. Evans *et al.*, 1994, 1995; Evans & Nicholson, 2000), although some exceptions exist yet (e.g. Tan, 1999; Bech, 2002). By contrast, low levels of imposex and contamination on the open coasts have been explained by high flushing efficiency (e.g. tide) and dilution (e.g. Minchin *et al.*, 1995; Rilov *et al.*, 2000; Shim *et al.*, 2000; Fernández *et al.*, 2002).

The incidence of imposex was 100 % in 4 of the 13 analysed localities which was comparable to those observed in Azores, Morocco and Gulf of Mexico – Florida; however, the registered imposex in Brazil, Israel and Estepona was as well-developed or even more marked than that observed here (Table 5). Specifically, imposex was not

detected in Papagayo (L), as Spence *et al.* (1990) observed approximately 20 years ago. Nevertheless, the number of leisure ships has notably increased in this location in the last years, due to the construction of a marina at few kilometres of distance. This will produce a series of contamination sources which, in turn, will increase TBT levels. The maximum value of RPSI (60.4) was lower than those registered in Azores, Estepona, Israel and Brazil (Fortaleza), similar to those observed in Brazil (Guanabara Bay) and Gulf of Mexico – Florida and higher than those found in Morocco and Gulf of Mexico – Florida (Table 5). The maximum value of RPLI (84.4) was lower and similar than those registered in Guanabara Bay and Fortaleza (both in Brazil), respectively (Table 5).

For the overall study and, specifically, for the analysed localities, both contaminated and clean, *Stramonita haemastoma* presented similar sizes for male and female specimens. In contrast to this, Rilov *et al.* (2000) found size differences among sexes (female > male) of this species in a highly contaminated locality by TBT in Israel. They supposed that females were larger as a result of higher somatic growth due to lower reproductive capability, although to confirm it more studies should be performed taking into consideration other factors, as for example, the conditions of the habitat (e.g. food availability). In relation to this, it was previously registered that *S. haemastoma* presents smaller sizes in the Archipelago compared with those found in Israel (Ramírez *et al.*, 2009). This seems to indicate the presence of multitude of factors, even own features of each region, affecting the size of this gastropod mollusc. On the other hand, male penis length was longer than that in female. The dependency of some indexes (e.g. RPSI or RPLI) of male penis length, which can be variable in relation to shell size, may cause a under- or over-estimate of them; due to this reason some authors advise to use other indexes (e.g. VDSI) (Tan, 1999; Bech, 2002). In this case, the moderate relation

between size and male penis length and, as it was above indicated, the size similarity between males and females, do not seem seriously affect the use of such indexes. As well as size must exist other factors those influence on penis length, since a great percentage of it remained without explanation. In some species the spawning season may modify male penis length (seen in Bech, 2002). In this study, this factor could not have importance since specimens were collected between November and February, whereas the spawning season occurs from April to August (Butler, 1985; Ramírez *et al.*, 2008). Female penis length seem to be independent of shell size suggesting its use may be a more sensitive measure of imposex than other indexes with reference to male penis (*sensu* Tan, 1999). In relation to all previously said, more studies are necessary to know deeply the imposex ecology.

Table 5. Previous results of imposex for *Stramonita haemastoma* in different geographical areas.

| Locality | Imposex (%) | RPSI | RPLI | VDSI | Sex ratio (male / female) | Reference |
|---------------------------|--|-------------------------------------|----------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| Azores | 0-100 (4/11) | 0-76 | - | 0-5 | 0.23-1.5* | |
| Estepona (Spain) | 100-100 (2/2) | 6.3-81.7 | - | 4-5 | 0.33-0.75* | Spence <i>et al.</i> (1990) |
| Papagayo (Canary Islands) | 0 | 0 | - | 0 | 2.03* | |
| Israel | 25-100 (4/8) | 0.1-89.4 | - | ≈ 2.5-5 | 0.8-1.5 | Rilov <i>et al.</i> (2000) |
| Brazil† | 19-100 (11/16) 0-100 (6/10) | <0.01-125 0-61.7 | <0.1-107.6 0-82.8 | 0-6 0-5 | 0.75-17 0.42-2.57 | Fernández <i>et al.</i> (2002, 2005) |
| Gulf of Mexico-Florida†† | 30-80 (2/6) 85-100 (2/5) 5-100 (1/6) | ≈ 0.1-62.6 ≈ 1-4.6 ≈ 0.3-4.39 | - | ≈ 0.5-3.3 ≈ 1.8-2.8 ≈ 0.5-3.69 | 0.79-1.48 0.84-1.32 0.57-1.37 | Stickle & Zhang (2003) |
| Morocco | 0-100 (1/3) | 0-50.87 | - | 0-4.66 | 1.4-2.74* | Lemghich & Benajiba (2007) |
| Brazil††† | - | - | - | 1.78-6 | - | Limaverde <i>et al.</i> (2007) |

Values express in ranges: min.-max. Also, the number of localities with an imposex frequency 100 % with respect to the total analysed localities is showed in parenthesis. †: Data from Guanabara Bay and Fortaleza, respectively. ††: Registered data in 1988-89, 1993, 2000, respectively. †††: Data from Guanabara Bay. -: No data; *: Inferred data; ≈: Approximated data.

Female specimens of *Stramonita haemastoma* are masculinized, sterilized (stage 5; Spence *et al.*, 1990), and then died when their vas deferens overgrow the vulva preventing the release of egg capsules. These irreversible sterilizations and selective mortalities may cause an unbalanced sex ratio. Nevertheless, sterilization may have a lesser ecological impact in *S. haemastoma* than on other species (e.g. *Nucella lapillus*) due to the potential influx of larvae (Spence *et al.*, 1990; Rilov *et al.*, 2000). In fact, *S. haemastoma* could be recruited in a contaminated area from other pristine areas, since it has a planktonic stage as veliger larva which can persist several months (Butler, 1985).

Sex ratio for *S. haemastoma* was very variable (0.5-2.5), as it was observed in other studies (see Table 5). This was mainly unbalanced – males were more abundant than females – and showed maximum values in two localities inside the ports. In addition to imposex incidence, other factors (e.g. environmental, genetic, etc.) might have affected the sex ratio since it was even high in unaffected populations (e.g. T). Although VDSI was not directly observed in this study (excepting some specimens), the inferred values were comparable to those registered in the rest of localities above indicated (see Table 5). The highest values of VDSI were registered in port areas, like Puerto de Santa Cruz de Tenerife (4.5), Puerto Naos and Los Mármoles (4.7) or in sites close to them like Taliarte (4.7). However, a good water circulation and dilution in an open coast, even in some port areas, seem to provoke a notable decrease of imposex severity. Tides reach up to 3 m and occur two times per day in the Canary Islands (Ramírez *et al.*, 2008). Furthermore, there are other factors which may limit the imposex development in the Archipelago, as for example: (1) a high sunlight which probably provokes a high degradation of organotin compounds and (2) a scarce accumulation of sediments on the coastal zone which limits the accumulation of such compounds; the absence of rivers as sediment suppliers or the short coastal platform (i.e. deep bottom near the coast) may be influential characteristics on such accumulation.

The higher development of imposex in populations of *Stramonita haemastoma* was analysed in Puerto Naos and Los Mármoles (L), which had a deep recession and probably could disappear in the near future. Such group of whelks present characteristics of a declining population: (1) a general scarcity of specimens, (2) there is not evidence of breeding activity and (3) survivors all appeared old, predominantly male (Gibbs & Bryan, 1994; see Fig. 5 y Table 5). Puerto Naos and Los Mármoles are

situated in a shallow-water bay where water circulation is greatly reduced, perhaps due to its own configuration; this situation has favoured the accumulation of sediments and thus, securely, the accumulation of organotin compounds over the years. Moreover, the direction of the dominant currents has possibly limited the introduction of recruits from outside the port. Not even the shorter maturation time of *S. haemastoma* (8-12 months; Butler, 1985) has been sufficient to contribute to the population's reproductive output, since expression of imposex is similarly rapid in juveniles (Spence *et al.*, 1990). It must be also considered that populations of *S. haemastoma* present lower densities in the Canarian Archipelago than in continental areas (Ramírez *et al.*, 2009). As imposex can not revert to normal condition, its presence in old specimens reflects the TBT levels in previous sampling years. In this sense, a great rate of contamination may proceed from that accumulated in sediments – situated at not much depth – which may be remobilised by storms, dredging operations, ship propellers, etc. Additionally, the degradation of organotin compounds is worst in ports due to the high turbidness (Macías-Carranza *et al.*, 1997).

Despite the presence of other populations of *Stramonita haemastoma* which showed a high percentage of imposex and high VDSI values as those observed in Puerto de Santa Cruz de Tenerife, these were not on the declined. Probably, a good circulation of waters, an entry of recruits from external zones, a low mobility of sediments (possibly due to a deeper bottom), etc. favour the subsistence of these populations. More studies are still necessary to reveal these hypotheses. Experiments as those including transplants of specimens from natural habitats to contaminated sites are important since these are helpful to know the imposex evolution and to interpret the

relation between population dynamics and TBT contamination (e.g. Quintela *et al.*, 2000; Shim *et al.*, 2000).

The registered concentrations of organotin compounds in *Stramonita haemastoma* were similar to those found on the west coast of the Atlantic Ocean (Brazil; Limaverde *et al.*, 2007). These were, however, mainly lower than those observed in the Mediterranean (Israel; Rilov *et al.* 2000). TBT showed a notable predominance on DBT with regard to TOT. This seems to be related to the degree of freshness of TBT inputs and the proximity of sources (Tolosa *et al.* 1996; Gómez-Ariza *et al.*, 2006; Ruiz *et al.* 1998). Male and female specimens presented similar levels of organotin compounds, as Bryan *et al.* (1993) detected for *Nassarius reticulatus*. In contrast, Horiguchi *et al.* (1994) observed that TBT concentration was generally higher in females than in males for *Thais clavigera* and *Thais bronni*; they suggested that this fact could be provoked due to differences of TBT accumulation between female and male reproductive organs. In this case, the specimens of *S. haemastoma* were collected in a non-reproductive season (i.e. gonads were not well-developed) that could explain the absence of differences between sexes. On the other hand, it is known that imposex is frequently induced at low concentrations of TBT. Several authors have provided the limit levels of imposex induction in some species, as for example: < 20 ng Sn g⁻¹ dry weight for *Nucella lapillus* (Gibbs *et al.*, 1987), < 10 ng TBT g⁻¹ dry weight for *Thais clavigera* (Shim *et al.*, 2000), 10-20 ng TBT g⁻¹ wet weight for *Thais clavigera* (Horiguchi *et al.*, 1994) and *Thais distinguenda* (Bech *et al.*, 2002) or 20 ng TBT g⁻¹ wet weight for *Stramonita haemastoma* (Limaverde *et al.*, 2007). Nevertheless, differences in the biological responses to TBT have been reported among different species of gastropod molluscs (Stroben *et al.*, 1992; Barroso *et al.*, 2000; Ten Hallers-Tjabbes *et*

al., 2003; Gómez-Ariza *et al.*, 2006). Also, differences in the imposex expression have been observed among populations of the same species (e.g. Ruiz *et al.*, 1998), which seem to be caused by genetic differences (Gibbs, 1993; Gibbs & Bryan 1996; Oehlmann *et al.*, 1996). In this sense, *S. haemastoma* showed a great variability in the imposex expression from one locality to another locality. Probably, several factors originated this variability, which should be examined in future studies. Moreover, a worrying aspect of the development of imposex as a biological indicator of TBT contamination is that it may not be the sole cause (Ellis, 1991; Evans & Nicholson, 2000).

In summary, this study has detected imposex in *Stramonita haemastoma* due to TBT contamination. Although it seems a localized phenomenon, the great number of ports along the canary coasts and the new construction of others – which, in turn, will increase considerably the TBT levels – could have severe environmental consequences. In fact, as it has been indicated in other insular regions (Bech, 2002), one of the reasons that explains the imposex extension and probably its increase in the Canarian Archipelago in the last decades seems to be the great tourist and economic development, which has provoked a considerable increase in the number of all types of ships. Moreover, imposex has been observed both in ports where small ships (< 25 m) are numerous and in those where there are abundant big ships (> 25 m). Therefore, as it has been indicated through this study, more works analysing the imposex extension and development, as well as contamination levels of organotin compounds in the environment, are necessary. Finally, the results of this study highlight the necessity of revising if the legislation about the use of anti-fouling paints is being implemented and if it is being effective to control the inputs of TBT.

5. REFERENCIAS

See the list of references in the chapter 4.

Anexo

D

Curriculum vitae

CURRICULUM VITAE

Libros y capítulos – Books and chapters

1. 2008. **Ramírez, R.**, Tuya, F. y Haroun, R. J. El Intermareal Canario. Poblaciones de lapas, burgados y cañadillas. BIOGES, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, p. 54.
2. 2005. **R. Ramírez** y F. Tuya. Estado de los ecosistemas litorales: muestreo intermareal de los recursos marisqueros, en R. Haroun y col. *Diagnóstico ambiental del litoral canario. Canarias, por una Costa Viva. 2002-2004.* p. 32-37.

Artículos – Papers

1. 2009. **Ramírez, R.**, Tuya, F. & Haroun, R. J. Efectos potenciales del marisqueo sobre moluscos gasterópodos de interés comercial (*Osilinus* spp. y *Patella* spp.) en el Archipiélago Canario. *Revista de biología marina y oceanografía*, 44 (3), ¿?-¿? . Índice de impacto: 0.57.
2. 2009. **Ramírez, R.**, Tuya, F. & Haroun, R. J. Spatial patterns in the population structure of the whelk *Stramonita haemastoma* (Linnaeus, 1766) (Gastropoda: Muricidae) in the Canarian Archipelago (eastern Atlantic). *Scientia Marina*, 73 (3), 431-437. Índice de impacto: 0.945.
3. 2007. Bergasa, O., **Ramírez, R.**, Collado, C., Hernández, J. J., Gelado-Caballero, M^a., Haroun, R., Rodríguez, M. Study of metals concentration levels in *Patella piperata* throughout the Canary Islands. *Environmental Monitoring and Assessment*, 127 (1-3), 127-133. Índice de impacto: 0.885.
4. 2006. Tuya, F., **Ramírez, R.**, Sánchez-Jerez, P., Haroun, R. J., González-Ramos, A. J. & Coca, J. Coastal resource exploitation can mask bottom-up mesoscale regulation of intertidal populations. *Hydrobiologia*, 553: 337-344. Índice de impacto: 1.201
5. 2005. **Ramírez, R.**, Tuya, F., Sánchez-Jerez, P., Fernández-Gil, C., Bergasa, O., Haroun, R. J. & Hernández-Brito, J. J. Population structure and spatial distribution of the gastropod molluscs *Osilinus atrata* and *Osilinus sauciatus* in the rocky intertidal zone of the Canary Islands (Central East Atlantic). *Ciencias Marinas*, 31 (4): 697-706. Índice de impacto: 0.82.
6. 2005. Navarro, P. G., **Ramírez, R.**, Tuya, F., Fernández-Gil, C., Sánchez-Jerez, P. & Haroun, R. J. Hierarchical analysis of spatial distribution patterns of patellid limpets in the Canary Islands. *Journal of Molluscan Studies*, 71: 67-73. Índice de impacto: 1.032.

Actas de congresos – Proceedings of conferences

1. 2006. **R. Ramírez**, P. González, R. Jaraíz, C. Fernández, F. Tuya, P. Sánchez-Jerez, O. Bergasa, A. Boyra, C. Collado, J. Hernández and R. J. Haroun. Spatial distribution patterns of limpets populations (*Patella* spp.) throughout the Canarian Archipelago, Spain (central east Atlantic). p. 16-21. En *Fauna and Flora of Atlantic Islands*. Ed. T. J. Hayden, D. A. Murray and J. P. O'Connor. Occasional publication of the Irish Biogeographical Society, nº 9, 213 pp.

2. 2006. **R. Ramírez**, C. Collado, O. Bergasa, J. J. Hernández, M^a. Gelado. Gastropod molluscs as indicators of the cadmium natural inputs in the Canarian Archipelago (Eastern Atlantic Ocean). p. 203-211. En: *Environmental Toxicology*. Eds. A. G. Kungolos, C. A. Brebbia, C. P. Samaras, V. Popov. WitPress. Vol. 10, 384 pp.
3. 2006. C. Collado, **R. Ramírez**, O. Bergasa, J. J. Hernández-Brito, M. D. Gelado-Caballero & R. J. Haroun. Heavy metals (Cd, Cu, Pb and Zn) in two species of limpets (*Patella rustica* and *Patella candei crenata*) in the Canary Islands, Spain. p. 45-53. En: *Water Pollution VIII. Modelling, Monitoring and Management*. Eds. C. A. Brebbia and J. S. Antunes do Carmo. WitPress. 672 pp.

Comunicaciones orales y posters – *Oral communications and posters*

1. 2009. **Ramírez, R.** Intermareal Canario, con especial incidencia en especies de interés marisquero (lapas, burgados y cañadillas). Comunicación oral. Universidad de Verano de la Gomera. San Sebastián de la Gomera, La Gomera.
2. 2008. **Ramírez, R.** Recursos marisqueros (lapas y burgados) en la isla de Fuerteventura. Evolución y perspectivas de futuro. Comunicación oral. Taller sobre Gestión Sostenible de Recursos Marinos. 8^a Conferencia Atlántica de Medio Ambiente. Puerto del Rosario, Fuerteventura.
3. 2006. **Ramírez, R.**, Tuya, F., Haroun, R. J. Impacto humano sobre las poblaciones de moluscos gasterópodos en las costas del Archipiélago Canario. Comunicación oral. XIV Simposio Ibérico de Estudios de Biología Marina. Barcelona.
4. 2006. **Ramírez, R.**, Tuya, F., Sánchez-Jerez, P., Hernández, J., Haroun, R. J. Poblaciones del molusco *Stramonita haemastoma* (Linnaeus, 1766) en las costas rocosas de las Islas Canarias (Atlántico Oriental) patrones de distribución espacial. Póster. XIV Simposio Ibérico de Estudios de Biología Marina. Barcelona.
5. 2006. Collado, C., Hernández-Brito, J. J., Gelado-Caballero, M. D., **Ramírez, R.**, Hernández, M. P. Estudio del contenido de metales del molusco gasterópodo *Osilinus atratus*: su potencialidad como biomonitorizador. Póster. XIV Simposio Ibérico de Estudios de Biología Marina. Barcelona.
6. 2006. **Ramírez, R.**, Collado, C., Bergasa, O., Hernández, J. J., Gelado, M. D. Gastropod molluscs as indicators of the cadmium natural inputs in the Canarian Archipelago (Eastern Atlantic Ocean). Comunicación oral. Coastal Environment. Rhodes, Grecia.
7. 2006. **Ramírez, R.** Lapas y Burgados en el Archipiélago Chinijo. Comunicación oral. Curso “Valores naturales, actividades económicas y desarrollo sostenible de las isla de la Graciosa”. La Graciosa.
8. 2004. **Ramírez, R.**, Jaraíz, R., González, P., Fernández-Gil, C., Tuya, F., Sánchez-Jerez, P., Bergasa, O., Boyra, A., Collado, C., Hernández-Brito, J., Haroun, R. Estructura poblacional y distribución espacial de los moluscos gasterópodos del género *Osilinus* en el intermareal rocoso de las Islas Canarias (Atlántico centro-oriental). Póster. XIII Simposio Ibérico de estudios del Bentos Marino. Gran Canaria.

9. 2004. Navarro, P. G. **Ramírez, R.**, Fernández-Gil, C., Tuya, F., Sánchez-Jerez, P. Haroun, R. J. Efectos del marisqueo sobre las lapas del Archipiélago Canario. Póster. XIII Simposio Ibérico de estudios del Bentos Marino. Gran Canaria.
10. 2004. Bergasa, O., **Ramírez, R.** Collado, C., Hernández, J. J. Gelado, M. G. y Haroun, R. Metal concentrations (Cu, Pb, Zn and Cd) in *Patella piperata* throughout the Canarian Archipelago, Spain. Comunicación oral. XIII Simposio Ibérico de estudios del Bentos Marino. Gran Canaria.
11. 2004. **Ramírez, R.**, González, P., Jaraiz, R., Fernández-Gil, C., Tuya, F., Sánchez-Jerez, P., Bergasa, O., Boyra, A., Collado, C., Hernández, J. J. y Haroun R. Spatial distribution patterns of limpet species (*Patella* spp.) throughout the Canarian Archipelago (Central East Atlantic). Póster. 5th International Symposium on Fauna and Flora of Atlantic Islands. Irlanda, Dublín.



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA